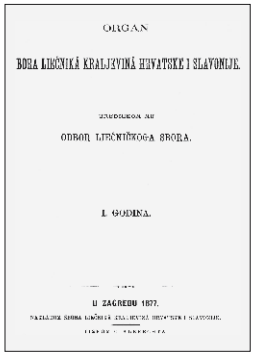
LIJEČNIČKI VJESNIK

GLASILO HRVATSKOGA LIJEČNIČKOG ZBORA

Utemeljen 1877.

https://lijecnicki-vjesnik.hlz.hr/
https://hrcak.srce.hr/lijecnicki-vjesnik


ORGAN
BORA LIEČNIKÁ KRALJEVINÁ HRVATSKE I SLAVONIJE.
ODBOR LIEČNIČKOGA ZBORA.
I. GODINA.
U ZAGREDU 1877.

UDK 61(061.231)=862=20
Liječnički vjesnik citiraju: Scopus, EMBASE/Excerpta Medica, EBSCO, Hrčak, DOAJ, CROSSREF

Liječnički vjesnik tiskano izdanje ISSN 0024-3477
Liječnički vjesnik online izdanje ISSN 1894-2177

Osnivač i izdavač
HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR
Za izdavača
ŽELJKO KRZNARIĆ
Glavni i odgovorni urednik
BRANIMIR ANIĆ
Tajnik uredničkog odbora
Željko Ferenčić
Tajnica redakcije
Draženka Kontek
Lektorica za hrvatski jezik
Silvija Brkić Midžić
Lektorica za engleski jezik
Mirjana Marečić
Deskriptori
Anamarija Laboš
Naslovnica
KONTRAST
Tehnički urednik
Josip Vlahović
Slog
„Gredice" – Horvaćanska 67, Zagreb, Hrvatska
Tisak
PRINTERA grupa – Franje Tuđmana 14, Sveta Nedelja, Hrvatska
Web stranica
Alen Babacanli
Naklada
1000 primjeraka

SAVJET

Predsjednik
Mladen Belicza

Tajnik
Miroslav Hromadko

Članovi
Nada Čikeš (Zagreb) – **Hedviga Hricak** (New York) – **Miroslav Hromadko** (Zagreb) – **Mirko Jung** (Zürich) – **Ivica Kostović** (Zagreb) – **Ante Padjen** (Montreal) – **Marko Pećina** (Zagreb) – **Dinko Podrug** (New York) – **Miljenko Pukanić** (Sydney) – **Smiljan Puljić** (Upper Saddle River, New Jersey) – **Berislav Tomac** (Hagen) – **Marko Turina** (Zürich)

UREDNIČKI ODBOR

Branimir Anić (Zagreb) – **Anko Antabak** (Zagreb) – **Branka Aukst Margetić** (Zagreb) – **Alen Babacanli** (Zagreb) – **Ivan Bojanić** (Zagreb) – **Boris Brkljačić** (Zagreb) – **Venija Cerovečki** (Zagreb) – **Mislav Čavka** (Zagreb) – **Željko Ferenčić** (Zagreb) – **Božo Krušlin** (Zagreb) – **Martin Kuhar** (Zagreb) – **Julije Meštrović** (Split) – **Mislav Planinc** (Zagreb) – **Dražen Pulanić** (Zagreb) – **Duje Rako** (Zagreb) – **Željko Reiner** (Zagreb) – **Zdenko Sonicki** (Zagreb) – **Davor Štimac** (Rijeka) – **Adriana Vince** (Zagreb) – **Miroslav Župčić** (Rijeka)

MEĐUNARODNI UREDNIČKI ODBOR

Jurgen Deckert (Würzburg, Njemačka) – **Patrick Erik Eppenberger** (Zürich, Švicarska) – **Michael Fuchsjäger** (Graz, Austrija) – **Primož Gradišek** (Ljubljana, Slovenija) – **Andrej Grajn** (Manchester, UK) – **Emir Q. Haxhija** (Graz, Austrija) – **Tomas Jovaisa** (Kaunas, Litva) – **Jamin Kashwa** (London, Engleska) – **Živko Steven Pavletić** (Bethesda, SAD) – **Semir Vranic** (Doha, Katar)

Zagreb, 2022.

Opis

Liječnički vjesnik je najstariji hrvatski medicinski časopis koji neprekidno izlazi od 1877. te redovito bilježi sva važna stručna i strukovna dostignuća u hrvatskoj i svjetskoj medicini. U *Liječničkom vjesniku* objavljuju se uvodnici, stručni i znanstveni radovi, pregledni članci, prikazi bolesnika, lijekova i metoda, preliminarna znanstvena i stručna priopćenja, osvrti, pisma uredništvu, prikazi knjiga, referati iz literature i drugi prilozi. Svi rukopisi podvrgnuti su procesu recenzija.

Rukopis i svi članci šalju se *Uredništvu Liječničkog vjesnika*, Zagreb, Šubićeva ul. 9, tel. (01) 46-93-300, e-pošta: lijecnicki-vjesnik@hlz.hr.

Članarina, pretplata i sve novčane pošiljke šalju se Hrvatskomu liječničkom zboru, Zagreb, Šubićeva ulica 9, na IBAN HR7423600001101214818, OIB 60192951611. Članarina Hrvatskoga liječničkog zbora iznosi 200 kuna; za liječnike pripravnike i obiteljska članarina iznosi 100 kuna. Pretplata za *Liječnički vjesnik* je 315 kuna (inozemstvo 84 eura). Radi redovitog primanja časopisa svaku promjenu adrese potrebno je javiti Uredništvu. Svaki član Hrvatskoga liječničkog zbora ima pravo besplatno objaviti članak u *Liječničkom vjesniku*; autori koji nisu članovi Zbora moraju platiti naknadu u iznosu od 187,50 kuna + PDV.

Tiskano u Hrvatskoj

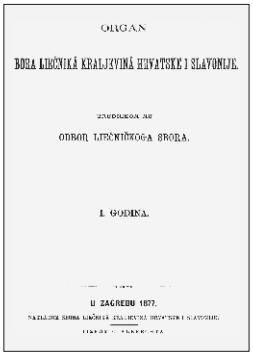
Autorska prava: Objava: Hrvatski liječnički zbor.
Svi su članci slobodno dostupni pod uvjetima Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivates 4.0 međunarodna licenca. Ova licenca dopušta drugima da preuzimaju djela i dijele ih s drugima dokle god ističu vaše autorstvo, ali ih ni na koji način ne mogu mijenjati ili koristiti u komercijalne svrhe. https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode

LIJEČNIČKI VJESNIK

THE JOURNAL OF THE CROATIAN MEDICAL ASSOCIATION

Founded 1877

https://lijecnicki-vjesnik.hlz.hr/
https://hrcak.srce.hr/lijecnicki-vjesnik



UDK 61(061.231)=862=20

Liječnički vjesnik indexed or abstracted in: Scopus, EMBASE/Excerpta Medica, EBSCO, Hrčak, DOAJ, CrossRef

Liječnički vjesnik printed edition ISSN 0024-3477

Liječnički vjesnik online edition ISSN 1894-2177

Founder and Publisher
CROATIAN MEDICAL ASSOCIATION

For Publisher
ŽELJKO KRZNARIĆ

Editor-in-Chief
BRANIMIR ANIĆ

Secretary of the Editorial Board
Željko Ferenčić

Secretary of the Editorial Office
Draženka Kontek

Croatian Language Revision
Silvija Brkić Midžić

English Language Revision
Mirjana Marečić

Descriptors
Anamarija Laboš

Front Page
KONTRAST

Technical Board
Josip Vlahović

Typesetting
"Gredice" – Horvaćanska 67, Zagreb, Croatia

Printed by
PRINTERA grupa – Franjo Tuđman street 14, Sveta Nedelja, Croatia

Web page
Alen Babacanli

Edition
1000 copies

ADVISORY BOARD

President
Mladen Belicza

Secretary
Miroslav Hromadko

Members
Nada Čikeš (Zagreb) – **Hedviga Hricak** (New York) – **Miroslav Hromadko** (Zagreb) – **Mirko Jung** (Zürich) – **Ivica Kostović** (Zagreb) – **Ante Padjen** (Montreal) – **Marko Pećina** (Zagreb) – **Dinko Podrug** (New York) – **Miljenko Pukanić** (Sydney) – **Smiljan Puljić** (Upper Saddle River, New Jersey) – **Berislav Tomac** (Hagen) – **Marko Turina** (Zürich)

EDITORIAL BOARD
Branimir Anić (Zagreb) – **Anko Antabak** (Zagreb) – **Branka Aukst Margetić** (Zagreb) – **Alen Babacanli** (Zagreb) – **Ivan Bojanić** (Zagreb) – **Boris Brkljačić** (Zagreb) – **Venija Cerovečki** (Zagreb) – **Mislav Čavka** (Zagreb) – **Željko Ferenčić** (Zagreb) – **Božo Krušlin** (Zagreb) – **Martin Kuhar** (Zagreb) – **Julije Meštrović** (Split) – **Mislav Planinc** (Zagreb) – **Dražen Pulanić** (Zagreb) – **Duje Rako** (Zagreb) – **Željko Reiner** (Zagreb) – **Zdenko Sonicki** (Zagreb) – **Davor Štimac** (Rijeka) – **Adriana Vince** (Zagreb) – **Miroslav Župčić** (Rijeka)

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD
Jurgen Deckert (Würzburg, Germany) – **Patrick Erik Eppenberger** (Zürich, Switzerland) – **Michael Fuchsjäger** (Graz, Austria) – **Primož Gradišek** (Ljubljana, Slovenia) – **Andrej Grajn** (Manchester, UK) – **Emir Q. Haxhija** (Graz, Austria) – **Tomas Jovaisa** (Kaunas, Lithuania) – **Jamin Kashwa** (London, UK) – **Živko Steven Pavletić** (Bethesda, USA) – **Semir Vranic** (Doha, Qatar)

Zagreb 2022

Description

The Croatian Medical Association started publishing its professional journal *Liječnički Vjesnik* in 1877. *Liječnički Vjesnik* is one of only about a hundred international journals that were coming out in the late 19th century, maintained continuity during the 20th century, and then entered the 21st century. It is also the oldest Croatian medical journal and regularly captures all important achievements, professional and trade events. Editorials, professional and scientific papers, review articles, patient reviews, medications and methods, preliminary scientific and expert papers, reviews, letters to the editor, book reviews, literature papers and other contributions are published in the journal *Liječnički Vjesnik*. Through publishing original scientific and professional papers by local authors, *Liječnički Vjesnik* has contributed to the overall health care improvement. All manuscripts are subjected to a review process.

All articles should be addressed to the Croatian Medical Association, Office of Liječnički Vjesnik, Zagreb, Šubićeva 9, tel. (01) 46-93-300, e-mail: lijecnicki-vjesnik@hlz.hr.

MEMBERSHIP AND SUBSCRIPTION: Membership, subscription or any other cash dispatches should be sent to the Croatian Medical Association, Zagreb, Šubićeva 9, Croatia. Bank account: HR7423600001101214818, VAT number HR60192951611. The membership fee for the Croatian Medical Association is 200,00 HRK. The membership fee for the family member is 100,00 HRK. Subscription fee for *Liječnički vjesnik* is 315,00 HRK (84 euros). Members and other legal entities are advised to inform Croatian Medical Association – Editorial Board of Liječnički Vjesnik about any change of address in order to receive the journal regularly. Each member of the Croatian Medical Association is allowed to publish the article in the journal *Liječnički vjesnik* for free. Non-members are also allowed to publish the article with administration fee in amount of 187,50 HRK + VAT.

Printed in Croatia

Author's. Published by: Croatian Medical Association.

All articles are freely available under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivates 4.0 International Licence. This license allows others to download works and share them with others as long as they credit you, but they can't change them in any way or use them commercially. https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode

SADRŽAJ / CONTENT

PREPORUKE | *RECOMMENDATIONS*

Marijana Gulin, Lada Zibar, Željko Huljev, Ksenija Vučur, Mario Laganović
Preporuke za prevenciju infekcije humanim papilomavirusima (HPV) u primatelja bubrežnog presatka Hrvatskog društva za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju
Recommendations for human papillomavirus (HPV) prevention in kidney transplant recipients of Croatian Society for Nephrology, Dialysis and Transplantation 67

IZVORNI RAD | *ORIGINAL ARTICLE*

Ivan Kovačić, Marijan Kovačić, Marija Kera, Tamara Tačigin
Kirurško liječenje gigantskih bazocelularnih karcinoma lica: naše iskustvo
Surgical treatment of giant basal cell carcinoma of the face: our experience 72

KLINIČKA ZAPAŽANJA | *CLINICAL OBSERVATIONS*

Marija Šćepović-Ljucović, Miroslav Mayer, Ivan Padjen, Branimir Anić
Longitudinalni ekstenzivni transverzalni mijelitis u sistemskom eritemskom lupusu – prikaz bolesnice s pregledom literature
Longitudinal extensive transverse myelitis in systemic lupus erythematosus – a case report and review of literature 79

Mislav Mokos, Željko Kaštelan, Marijana Ćorić, Nikolina Bašić-Jukić
Transplantacija bubrega u starijeg bolesnika organom vrlo starog darovatelja
Kidney transplantation in elderly recipient with organ from very old donor 87

LIJEKOVI I METODE | *DRUGS AND PROCEDURES*

Željka Laksar Klarić, Ana Đanić Hadžibegović, Andrijana Včeva, Tamara Živković Ivanović, Darija Birtić, Ratko Prstačić, Željko Zubčić
Primjena ultrabrze videoendoskopije u laringektomiranih bolesnika – pregled literature
Application of high-speed videoendoscopy in laryngectomy patients – a review of the literature 90

PREGLED | *REVIEW*

Nina Milutin Gašperov, Ivan Sabol, Vjekoslav Tomaić, Magdalena Grce
Epigenetički biljezi u tumorima glave i vrata: posebni osvrt na tumore orofarinksa povezane s HPV-om
Epigenetic markers in head and neck cancer: special view on HPV-associated oropharyngeal cancer 96

Vjekoslav Tomaić, Nina Milutin Gašperov, Ivan Sabol, Magdalena Grce
Onkogeneza povezana s HPV-om u tumorima glave i vrata
HPV-associated oncogenesis in head and neck cancer 106

FARMAKOTERAPIJSKI SAVJETNIK | *ADVICES IN PHARMACOTHERAPY*

Marko Barešić, Branimir Anić
Terapijske mogućnosti liječenja intersticijskih bolesti pluća u sklopu sistemskih reumatskih bolesti – primjer sistemske skleroze
Therapeutic options for the treatment of interstitial lung diseases in systemic rheumatic diseases – systemic sclerosis as an example 112

ZDRAVSTVENA ZAŠTITA | *HEALTH CARE*

Darija Birtić, Matej Rezo, Jasminka Grigić, Željka Laksar Klarić, Mirjana Grebenar Čerkez
Utjecaj nacionalnog zatvaranja uslijed pandemije bolesti COVID-19 na učestalost javljanja sekretornog otitisa u djece – KBC Osijek
The impact of national lockdown due to COVID-19 pandemic on frequency of occurrence of secretory otitis media among children – our experience 117

IN MEMORIAM | *OBITUARIES*

Prim. dr. sc. Gordana Kaić; dr. Dragomir Dokmanović 121

VIJEST / *NEWS* 71, 116, 120

UPUTE AUTORIMA / INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

O ČASOPISU

Liječnički vjesnik (LV), službeni recenzirani časopis Hrvatskoga liječničkog zbora objavljuje uvodnike, stručne i znanstvene radove, preglede, prikaze bolesnika, lijekova i metoda, prethodna znanstvena i stručna priopćenja, osvrte, pisma uredništvu, prikaze knjiga i druge priloge uz uvjet da već nisu u istom obliku objavljeni u drugim časopisima ili knjigama. Časopis izlazi šest (6) puta godišnje.
Sadržaj iz časopisa *Liječnički vjesnik* smije se bez naknade koristiti u nastavne i istraživačke svrhe, uz potpuno navođenje izvora. Svaka druga uporaba zabranjena je bez izričitog pisanog dopuštenja izdavača.

PREDAJA RADA / OBJAVA RUKOPISA

Svi prilozi šalju se na adresu: Uredništvo Liječničkog vjesnika, Hrvatski liječnički zbor, Šubićeva 9, 10000 Zagreb. (telefon +385 1 46 93 310)
LV se pridržava i upućuje autore na preporuke za pripremu rukopisa objavljene u tekstu Međunarodnog odbora urednika medicinskih časopisa (*International Committee of Medical Journal Editors* – ICMJE; http://icmje.org/icmje-recommendations.pdf) i Svjetske udruge medicinskih urednika (*World Association of Medical Editors* – WAME; http://www.wame.org). Etički standardi sukladni su onima Odbora publicističke etike (*Committee on Publication Ethics* – COPE; https://publicationethics.org/resources) i Vijeća znanstvenih urednika (*Council of Science Editors* – CSE; https://www.councilscienceeditors.org/wp-content/uploads/entire_whitepaper.pdf).
Čitav rukopis, uključujući sve priloge, treba poslati u jednom tiskanom primjerku te na e-mail: lijecnicki-vjesnik@hlz.hr. Mora se rabiti dvostruki prored, veličine slova 11 točaka, na jednoj strani lista. Svaki dio rukopisa treba započeti na novoj stranici. Uz rukopis je obavezno priložiti popratne dokumete koje možete naći na: https://lijecnicki-vjesnik.hlz.hr

1. podsjetnik autorima;
2. izjave o sukobu interesa;
3. izjave o autorstvu i prijenosu autorskih prava.

Rukopisi upućeni bez priloženih dokumenata neće biti razmatrani.
Radovi se ne objavljuju prema redoslijedu prispijeća rukopisa u uredništvo časopisa. Rukopisi i ostali dostavljeni materijali pošiljateljima se ne vraćaju.

AUTORSTVO

Osobe određene kao autori moraju se kvalificirati za autorstvo. Sukladno preporukama Međunarodnog odbora urednika medicinskih časopisa (*International Committee of Medical Journal Editors* – ICMJE) uz rukopis autori trebaju priložiti pisanu izjavu da su znatno sudjelovali u koncepciji ili nacrtu rada ili u prikupljanju, analizi i interpretaciji podataka i napisali prvu verziju rada ili su ga kritički revidirali u znatnom dijelu intelektualnog sadržaja i odobrili završnu verziju rada te su se složili da su odgovorni za sve značajke rada i jamče da će se pitanja koja se odnose na točnost i integritet bilo kojeg dijela rada prikladno istražiti i riješiti. (engl. *Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND Final approval of the version to be published; AND Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved*). Osobe koje nisu zadovoljile kriterije za autorstvo poput osoba koje su pružile intelektualnu pomoć (engl. *intellectual assistance*), tehničku pomoć (engl. *technical help*) ili osigurale specijalnu opremu i materijale (engl. *provided special equipment or materials*) treba navesti u dijelu Zahvale.
Uz rukopis treba priložiti pisanu izjavu da rad prethodno nije bio objavljen ili ponuđen/prihvaćen za objavu u nekom drugom časopisu, da su ga pročitali i odobrili svi autori te izjavu da ne postoji financijski ili bilo kakav drugi sukob interesa. Također, uz rukopis treba priložiti i izjavu o prijenosu autorskih prava na časopis.

PLAGIRANJE I POVLAČENJE RADA

Svi se radovi provjeravaju na originalnost i plagiranje, umnažanje, dupliciranje i prekomjernu prijavu/publikacije i teksta i slikovnih prikaza iz drugih izvora (s pomoću, na primjer, programa Duplichecker, Plagiarism Checker, Plagium, PlagScan). Plagirani ili na bilo koji drugi neetički način objavljeni radovi bit će povučeni u skladu s COPE-ovim Uputama o povlačenju radova (COPE – *Retraction Guidelines;* https://publicationethics.org/files/retraction%20guidelines.pdf).
Uredništvo preporučuje autorima da se registriraju kod ORCID-a (https://orcid.org) i prilikom prijave rada dostave ORCID-ov identifikacijski broj (ID), koji će radi bolje vidljivosti autorstva i publiciranja biti naveden prije Literature.
Svi koji su sudjelovali u radu, a nisu autori trebaju biti spomenuti u Zahvali.

KATEGORIZACIJA, FORMAT I OPSEG RADOVA

Liječnički vjesnik objavljuje ove vrste radova kod kojih je potrebna recenzija (engl. *peer-reviewed articles*): uvodnike, originalne znanstvene radove, stručne radove, kratka priopćenja, preliminarna izvješća, pregledne radove i dobro dokumentirane prikaze bolesnika.

Uvodnik *(Editorial):* maksimalno 1200 riječi; do 1 slike ili tablice; do 20 referencija; 3 – 6 ključnih riječi; nestrukturirani sažetak do 300 riječi (ako je primjenjivo).
Originalni rad *(Original Research Article):* maksimalno 6000 riječi; do 6 slika i 6 tablica; neograničeni broj referencija; 3 – 6 ključnih riječi; strukturirani sažetak do 300 riječi (izuzetak su radovi iz povijesti medicine koji mogu imati nestrukturirani sažetak).
Stručni rad *(Professional Article):* maksimalno 5000 riječi; do 5 slika i 5 tablica; neograničeni broj referencija; 3 – 6 ključnih riječi; strukturirani sažetak do 300 riječi (izuzetak su radovi iz povijesti medicine koji mogu imati nestrukturirani sažetak).
Kratko priopćenje *(Short Communication, Brief Report):* maksimalno 1200 riječi; do 3 slike ili tablice; do 15 referencija; 3 – 6 ključnih riječi; strukturirani sažetak do 300 riječi.
Prethodno priopćenje *(Preliminary Communication):* maksimalno 1200 riječi; do 3 slike ili tablice; do 15 referencija; 3 – 6 ključnih riječi; strukturirani sažetak do 300 riječi.
Prikaz bolesnika (s pregledom literature) *(Case Report (with Review of the Literature)):* maksimalno 5000 riječi; do 5 slika ili tablica; neograničeni broj referencija; 3 – 6 ključnih riječi; nestrukturirani sažetak do 300 riječi.
Pismo uredniku *(Letter to the Editor):* maksimalno 1000 riječi; do 7 referencija.
Ispravak *(Erratum):* omogućuje korekciju pogrješaka koje su se pojavile kod pisanja, printanja ili u procesu publikacije članaka. Šalje se na adresu: *Liječnički vjesnik*, Uredništvo, Hrvatski liječnički zbor, Šubićeva 9, 10000 Zagreb ili elektroničkom poštom na: lijecnicki-vjesnik@hlz.hr

ABOUT THE JOURNAL

Liječnički vjesnik (LV), the official peer-reviewed journal of the Croatian Medical Association, publishes editorials, professional and research articles, review articles, case reports, drugs and methods reviews, preliminary scientific and professional communications, commentaries, letters to the editor, book reviews, and other contributions, provided they have not been published in the same format in another journal or book. The journal is published six times a year.
The contents of *Liječnički vjesnik* may be used free of charge for educational and research purposes, with full reference to the source. Any other use is prohibited without express permission by the publisher.

PAPER SUBMISSION / MANUSCRIPT PUBLICATION

All contributions should be mailed to: Uredništvo Liječničkog vjesnika, Hrvatski liječnički zbor, Šubićeva 9, 10000 Zagreb, Croatia. (telephone +385 1 46 93 310)
LV follows the instructions for the manuscript preparation published by the *International Committee of Medical Journal Editors* – ICMJE (http://icmje.org/icmje-recommendations.pdf) and the *World Association of Medical Editors* – WAME (http://www.wame.org), and recommends the same to authors. Ethical standards comply with those of the *Committee on Publication Ethics* – COPE (https://publicationethics.org/resources) and the *Council of Science Editors* – CSE (https://www.councilscienceeditors.org/wp-content/uploads/entire_whitepaper.pdf).
The complete manuscript, including all the supplements, should be sent in one printed copy, and submitted electronically to: lijecnicki-vjesnik@hlz.hr. The text should be double-spaced, typed in 11-point font, printed on one side. Each section of the manuscript should begin on a new page. It is required to include with the manuscript the following documents (to be found at: https://lijecnicki-vjesnik.hlz.hr):

1. Checklist for Authors;
2. Conflict of Interest Statement;
3. Statement of Authorship and Copyright Transfer.

Manuscripts submitted without the above attachments will not be considered.
Manuscripts are not published in the order in which they are received by the editorial board. Manuscripts and other submitted material are not returned to senders.

AUTHORSHIP

Individuals designated as authors must meet the criteria for authorship. Following the recommendations of the *International Committee of Medical Journal Editors* – ICMJE, authors are required to include with the manuscript a written statement indicating that they have made substantial contributions to the conception or design of the work, or to the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; that they have drafted the work or revised it critically for important intellectual content; that they give final approval of the version to be published; and that they agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. Individuals who do not meet the criteria for authorship, e.g. persons who have provided intellectual assistance, technical help, or special equipment or materials, should be listed under Acknowledgements.
It is required to include with the manuscript a written statement indicating that the paper has not been previously published or submitted/accepted for publication in another journal, that all the authors have read it and approved, and the statement that there is no financial or any other conflict of interest. Also, it is required to include with the manuscript a statement that the authors of the paper agree to transfer their copyright to the journal.

PLAGIARISM AND RETRACTION OF PAPERS

All papers are screened for originality and plagiarism, copying, the duplicate and redundant submission/publication of texts and images from other sources (with checker tools such as Duplichecker, Plagiarism Checker, Plagium, PlagScan). Plagiarized papers or papers unethically published in any other way will be retracted following COPE's Retraction Guidelines (https://publicationethics.org/files/retraction%20guidelines.pdf).
The editorial board recommends authors to register with ORCID (https://orcid.org) and, when submitting a paper, to provide their ORCID ID number that will be shown at the end of the paper and before the References to provide access to information on authorship and publications and to ensure better visibility.
All individuals who have participated in the paper and who are not authors should be mentioned under Acknowledgements.

CATEGORIZATION, FORMATTING AND WORD LIMIT FOR PAPERS

Liječnički vjesnik publishes the following peer-reviewed articles: editorials, original research articles, professional articles, short communications/brief reports, preliminary communications, review articles and well-documented case reports.

Editorial: 1200 words maximum; up to 1 figure or table; up to 20 references; 3 – 6 keywords; unstructured abstract up to 300 words (if applicable).
Original Research Article: 6,000 words maximum; up to 6 figures and 6 tables; unlimited number of references; 3 – 6 keywords; structured abstract up to 300 words (except for articles on the history of medicine that may have an unstructured abstract).
Professional Article: 5,000 words maximum; up to 5 figures and 5 tables; unlimited number of references; 3 – 6 keywords; structured abstract up to 300 words (except for articles on the history of medicine that may have an unstructured abstract).
Short Communication, Brief Report: 1,200 words maximum; up to 3 figures or tables; up to 15 references; 3 – 6 keywords; structured abstract up to 300 words.
Preliminary Communication: 1,200 words maximum; up to 3 figures or tables; up to 15 references; 3 – 6 keywords; structured abstract up to 300 words.
Case Report (with Review of the Literature): 5,000 words maximum; up to 5 figures or tables; unlimited number of references; 3 – 6 keywords; unstructured abstract up to 300 words.
Letter to the Editor: 1,000 words maximum; up to 7 references.
Erratum: enables correction of errors made in writing, printing or in the process of publication of an article. To be sent to: *Liječnički vjesnik*, Uredništvo, Hrvatski liječnički zbor, Šubićeva 9, 10000 Zagreb, Croatia, or via email: lijecnicki-vjesnik@hlz.hr.

PRIPREMA RADA / RUKOPISA

Rukopis mora imati ovaj sadržaj:

1. ***Naslovnu stranicu*** s naslovom na hrvatskom i engleskom jeziku te imenima i prezimenima autora. Ispod toga treba navesti ustanove u kojima autori rade i nazive ustanova u kojima je rad napravljen te ponoviti ime i prezime svakog autora s akademskim stupnjem uz naziv ustanove u kojoj radi. Potrebno je posebno navesti adresu autora s kojime se Uredнički odbor može dopisivati. Na dnu stranice potrebno je predložiti skraćeni naslov članka koji će se tiskati kao tekući naslov.

2. ***Sažetak i ključne riječi***

Druga stranica treba sadržavati strukturirani sažetak na hrvatskom i engleskom jeziku (do 300 riječi) u kojem su navedeni cilj studije/istraživanja, materijal (ispitanici) i metode, rezultati i zaključci.

U sažetku valja naglasiti nove i važne aspekte studije ili opservacije. Ispod sažetka autori trebaju navesti četiri do šest ključnih riječi ili kratkih pojmova na hrvatskom i engleskom jeziku koji će pomoći pri indeksiranju članka i mogu se objaviti uz sažetak. Za ključne riječi treba se koristiti pojmovima iz popisa *Medical Subject Headings* (MeSH) Indexa Medicusa. Općenite, pluralne i mnogostruke koncepte (primjerice uz uporabu „i", „ili") treba izbjegavati. Sažetak ne smije sadržavati navode referencija.

3. ***Uvod***

U uvodu se navodi svrha rada i razlog provođenja studije ili opservacije. Preporučuje se navesti samo relevantne referencije, bez podataka ili zaključaka iz rada.

4. ***Postupci (metode)***

Navodi se odabir i sve važne karakteristike ispitanika ili laboratorijskih životinja koje su studirane ili opservirane. Za lijekove i kemikalije moraju se rabiti generička imena. Sve veličine trebaju biti izražene u SI jedinicama. U tekstovima na hrvatskom jeziku koristi se decimalni zarez.

Postupci poznati iz literature opisuju se okvirno uz navođenje literaturnog podatka. Uređaje je potrebno imenovati, navodeći u zagradi naziv i adresu proizvođača. Statističke postupke potrebno je objasniti dovoljno detaljno da bi čitatelj iz izvornih rezultata mogao sam izračunati navedene vjerojatnosti. Ako je korištena računalna obrada podataka mora se navesti statistički program koji je korišten. Za istraživanje na ljudima potrebno je navesti sukladnost s etičkim načelima Deklaracije iz Helsinkija iz 2000. godine i njenim dopunama iz 2002. i 2004. godine. Isto tako treba navesti je li i koje etičko povjerenstvo dalo pristanak za provođenje istraživanja. Ne smiju se navoditi imena, inicijali ili matični brojevi bolesnika.

5. ***Rezultati***

Značajnost rezultata potrebno je statistički potkrijepiti. Treba se služiti SI jedinicama. Treba iscrpno opisati statističke metode da bi se educiranom čitatelju koji ima pristup izvornim podatcima dala mogućnost da potvrdi navedene rezultate. Gdje god je to moguće zaključke treba kvantificirati i prezentirati odgovarajućim indikatorima pogrješke ili odstupanja od mjerenja.

Rezultati se izlažu logičnim slijedom u tekstu, tablicama i ilustracijama. U tekstu se ne ponavljaju svi podatci iz tablica ili ilustracija, već se naglašavaju ili sažimaju samo bitna opažanja.

6. ***Rasprava***

Treba naglasiti nove i bitne aspekte studije te zaključke koji proistječu iz nje. Ne preporučuje se detaljno ponavljati podatke ni bilo koje druge materijale koji su navedeni u uvodnom dijelu ili u dijelu s rezultatima. U dijelu za raspravu treba objasniti važnost dobivenih rezultata i njihova ograničenja, uključujući i implikacije vezane uz buduća istraživanja, ali uz izbjegavanje izjava i zaključaka koji nisu potpuno potvrđeni dobivenim podatcima. Opažanja iz ove studije treba usporediti s ostalim relevantnim studijama. Kad je potrebno, mogu se navesti nove hipoteze uz jasno naglašavanje da su nove.

7. ***Zaključci***

Zaključci se izvode na osnovi vlastitih rezultata, odvojeno nakon rasprave.

8. ***Statistička obrada***

U poglavlju „Metode" treba iscrpno opisati statističke metode da bi se educiranom čitatelju koji ima pristup izvornim podatcima dala mogućnost da potvrdi navedene rezultate. Gdje god je to moguće zaključke treba kvantificirati i prezentirati odgovarajućim indikatorima pogrješke ili odstupanja od mjerenja. Treba navesti korišteni računalni program.

9. ***Etika i etički standardi***

U radovima koji se bave istraživanjima na ljudima jasno treba navesti da su postupci provedeni sukladno etičkim standardima institucijskog ili regionalnog odbora odgovornog za izvođenje istraživanja na ljudima te u skladu s Helsinškom deklaracijom iz 1975. godine, revidiranom 1983. godine. Ne smije se navoditi ispitanikovo ime i/ili prezime, osobito u ilustrativnim materijalima. U radovima koji se bave istraživanjima na životinjama treba navesti da je poštovan institucionalni ili nacionalni pravilnik o brizi o laboratorijskim životinjama i njihovu korištenju.

U slučaju sumnje na plagijat Uredнički odbor će nakon vlasite procjene problema materijal uputiti nadležnom etičkom povjerenstvu ili povjerenstvu za akademski integritet.

10. ***Kratice***

Treba rabiti samo standardne kratice. Puni pojam za koji se rabi kratica mora biti naveden pri prvom korištenju kratice u tekstu, osim ako je riječ o standardnim kraticama mjernih jedinica. Kratice treba izbjegavati u naslovu rada.

11. ***Simboli***

U tekstu se simboli moraju objasniti. U dodatku se može navesti iscrpan popis simbola.

12. ***Tablice***

Naslovi tablica, tekstualni dio tablica moraju biti dvojezični, na hrvatskom i engleskom jeziku.

Tablice se pišu na posebnoj stranici. Ne smiju se slati kao fotografije. Svaka tablica mora imati naslov i redni broj prema redoslijedu pojavljivanja u tekstu. Tablica mora biti pregledna i jednostavna. Legende tablica trebaju biti napisane ispod tablice, uz oznaku u tablici u superskriptu. Tablice ne bi trebale ponavljati rezultate koji su prezentirani bilo gdje drugdje u radu (npr., u slici). Tablice preuzete iz drugih izvora treba popratiti dopuštenjem za objavu njihovih izdavača/autora.

- Poželjno je da se tablice ne dostavljaju kao slike, nego se integriraju u tekst. Preporučuje se oblikovati tablice što je jednostavnije moguće.

ARTICLE / MANUSCRIPT PREPARATION

The manuscript should include:

1. ***Title page*** with the title in Croatian and in English, and the names and surnames of the author(s). Below should follow the name of the author's/authors' affiliation(s), and the name of the institution(s) where the work was performed. The name and surname of each author should be repeated, with his/her academic degree, and the name of the institution where he/she works. It is required to include the address of the corresponding author whom the editorial board can contact. A short title of the article, that will be printed as current title, should be suggested at the bottom of the page.

2. ***Abstract and Keywords***

The second page should include a structured summary in Croatian and in English (up to 300 words), with the aim of the study/research, the material (participants) and methods, results and conclusions.

New and important aspects of the study or observation should be emphasized in the abstract. Below should be given four to six keywords or short terms in Croatian and in English, to assist in indexing the article and to be published with the abstract. Terms from the Medical Subject Headings (MeSH) list of Index Medicus should be used for keywords. General, plural and multi-word concepts (e.g. use of "and", "or") should be avoided. The abstract should not include references.

3. ***Introduction***

The introduction provides the purpose and rationale for conducting the study or the research. It is recommended to cite only relevant references, without any data or conclusions.

4. ***Procedures (methods)***

The selection and all the important characteristics of the participants or laboratory animals studied or observed should be listed. Generic names should be used for drugs and chemicals. All measurements should be given in SI units. In Croatian language texts, a decimal comma should be used.

Procedures familiar from the literature should be described in general outline, providing full reference details. Devices should be identified, including the manufacturer's name and address in parentheses. Statistical procedures should be described in detail to enable the reader to calculate the stated probabilities from the original results. In the case of computer data processing, the statistical software used should be specified. Papers dealing with research involving human subjects should state that the research was conducted following the ethical standards as given in the Declaration of Helsinki of 2000, as amended in 2002 and 2004. The name of any ethical committee that has approved the conduct of the research should also be stated. Participants' names, initials or ID numbers should not be included.

5. ***Results***

Relevance of data should be statistically corroborated. SI units should be used. Statistical methods should be described in detail, to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. Where possible, findings should be quantified and presented with appropriate indicators of measurement error or uncertainty.

Results should be presented in a logical sequence in the text, tables, and illustrations. All the data in the tables or illustrations should not be repeated in the text, but rather only the most important observations should be emphasized or summarized.

6. ***Discussion***

New and important aspects of the study, and its results, should be emphasized.. It is not recommended to repeat in detail data or any other material given in the Introduction or in the Results section. It is important to explain the significance of the results obtained, their limitations, and implications for future research, avoiding, however, making statements and drawing conclusions not completely confirmed by the obtained data. Observations from the study should be compared with other relevant studies. When necessary, new hypotheses may be given, but clearly labelled as such.

7. ***Conclusions***

The main conclusions are drawn based on the author's or authors' own results, separately after the discussion.

8. ***Statistics***

Statistical methods should be described in detail in the Methods section, to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. Where possible, findings should be quantified and presented with appropriate indicators of measurement error or uncertainty. The statistical software used should be specified.

9. ***Ethics and ethical standards***

Papers dealing with experiments involving human subjects should clearly state that the procedures were conducted following the ethical standards of an institutional or national committee responsible for experiments involving human subjects, and in accordance with the Declaration of Helsinki of 1975, as revised in 1983. Participants' names and/or surnames should not be published, particularly in illustrative materials. Papers dealing with experiments on animals should state that an institutional or national standard for the care and use of laboratory animals was followed.

If in doubt about plagiarism, and having assessed the problem, the editorial board will refer the material to a responsible ethics committee or to an academic integrity committee.

10. ***Abbreviations***

Only standard abbreviations should be used. The spelled-out abbreviation followed by the abbreviation in parentheses should be used at the first mention unless the abbreviation is a standard unit of measurement. Abbreviations should be avoided in the manuscript title.

11. ***Symbols***

Symbols used in the text should be explained. A detailed list of symbols may be given in an appendix.

12. ***Tables***

Table titles and text in tables should be bilingual, in Croatian and in English.

Tables should be presented on a separate page. They should not be submitted as photographs. Each table should have a title and be numbered consecutively in the order it appears in the text. Tables should be self-explanatory and simple. Table legends should be given below the table, and may include a reference to data in the table indicated by a superscript figure or letter. Results presented elsewhere in the article (e.g. in an illustration), should not be repeated in the table. If a table originating from other sources is used, permission for such publication should be obtained from the respective publisher/author.

- It is desirable that tables are not submitted as images, but integrated in the text. It is recommended to design tables as simply as possible.

13. ***Figures***

Figure descriptions and text in figures should be bilingual, in Croatian and in English.

All figures should be professionally drawn or photographed. Letters, numbers, and symbols on figures should be clear enough to remain legible when the figure is reduced for publication. Each figure should be numbered consecutively according to the order in which it appears in the text, have the author's name and

13. ***Slike***

Opisi slika i tekstualni dio slike moraju biti dvojezični, na hrvatskom i engleskom jeziku.

Sve slike trebaju biti profesionalno nacrtane ili snimljene. Slova, brojevi i simboli moraju biti čitki i u smanjenom obliku u kojem će se objaviti. Svaka slika mora imati broj prema redoslijedu pojavljivanja u tekstu, ime autora i označenu gornju stranu. Svaki crtež mora imati broj prema redoslijedu pojavljivanja u tekstu i označenu gornju stranu. Crteži trebaju biti dovoljno kvalitetno izrađeni za objavu u tisku. Fotokopije slika ili fotografija nisu pogodne za reprodukciju. Fotografije osoba mogu se objavljivati samo uz pismeno dopuštenje osobe na fotografiji (ili skrbnika) ili osoba mora biti neprepoznatljiva (prekrivanje očiju, lica i sl.). Slike preuzete iz drugih izvora treba popratiti dopuštenjem za objavu njihova izdavača/autora.

Ako se dostavljaju u elektroničkom obliku, slike/ilustracije moraju biti u formatu TIFF ili JPEG visoke kvalitete, najmanje širine 1500 piksela. Slike/ilustracije u ostalim formatima mogu biti prihvaćene samo uz prethodni dogovor s uredništvom. Uredništvo pridržava pravo ne objaviti slike/ilustracije koje ne zadovoljavaju ove uvjete.

- Slike (fotografije, grafove, figure…) autori moraju dostavljati zasebno u što boljoj kvaliteti i što višoj rezoluciji (.tif, .png). Svaka slika u tekstu mora imati svoj generički naziv (slika 1.) uz svoj vlastiti naziv. Generički naziv treba sadržavati redni broj zapisan arapskim znamenkama po redu pojavljivanja u tekstu. Naziv slike i opis se smatraju sastavnim dijelom teksta, a ne slike, stoga se navode u tekstu, a ne na slici.
  (preporuke za oblikovanje rada prilikom pisanja kako bi se kasnije iz postojećeg teksta što lakše kreirao XML)

14. ***Popis literature***

LV u potpunosti prihvaća upute za citiranje literature prema *Vancouverskom načinu (International committee of medical journal editors Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical jornals: Sample references* http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Literatura se navodi rednim brojem, prema redoslijedu citiranja u tekstu (prva referencija nosi broj 1). Ako rad ima šest ili manje autora, treba ih navesti sve, a ako ih je sedam ili više, treba navesti prvih šest i dodati: i sur. Časopise treba prikazivati kraticom koju rabi *Index Medicus* (http://www.pubmed.gov).

Primjeri citiranja literature:

Članak u časopisu

Golubić D, Rapić D, Breintenfeld V. Neka klinička, dijagnostička i terapijska zapažanja o humanoj trihinelozi. Liječ Vjesn. 1985;107:11-4.

Suplement časopisa:

Lundstrom I, Nylander C. An electrostatic approach to membrane bound receptors. Period Biol. 1983;85(Suppl 2):53-60.

Knjige i monografije

Autor(i) pojedinci

Eisen HN. Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response. 5. izd. New York: Harper and Row; 1974, str. 406.

Urednik

Dausset J, Colombani J, ur. Histocompatibility testing. Copenhagen: Munksgaard; 1973, str. 12-8.

Poglavlje u knjizi

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

Članak na internetu

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [serial on the Internet]. 2002 Jun [pristupljeno 2002 Aug 12];102(6):[oko 3 str.]. Dostupno na: http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm

15. ***Popratno pismo*** mora sadržavati ime, adresu i telefonski broj (fiksni/mobilni) autora koji će komunicirati sa Uredničkim odborom LV-a te preuzeti na sebe da s ostalim autorima dogovori potrebne izmjene. U pismu je potrebno navesti mišljenje o kojoj se vrsti članka radi. Uz pismo potrebno je priložiti ispunjeni podsjetnik, izjavu o autorstvu te izjavu o sukobu interesa (https://lijecnicki-vjesnik.hlz.hr). Bez ovih priloga rukopisi se neće niti razmatrati.

16. ***Zahvala***

U zahvali treba navesti sve suradnike koji nisu zadovoljili kriterije za autorstvo, poput osoba koje su pružile tehničku podršku pomoć pri pisanju ili opću podršku. Financijska i materijalna potpora također treba biti navedena.

PROCES OCJENE RADA

Svaki će se rukopis tretirati kao strogo povjerljiv materijal, a proces ocjene rada provodi se anonimno. Prispjele rukopise najprije procjenjuje uredнички odbor te ih potom šalje najmanje dvojici recenzenata anonimno. Svaki upućeni rad dobiva svoj broj i oznaku (ID), a autori će biti obaviješteni o prijmu rada i njegovu broju. Autori su se dužni tim ID brojem koristiti u svakoj budućoj korespondenciji. Autor kojega su ostali autori imenovali za korespondenciju djeluje u ime ostalih u procesu vezanom za publikaciju rada. Rukopisi i ostali dostavljeni materijali ne vraćaju se pošiljateljima.

Nakon što uredнички odbor razmotri pristigle recenzije upućuje ih autoru/ima na uvid i popravak rukopisa. Ovisno o naravi recenzentskih primjebi popravljeni rukopis se može ponovno uputiti na recenziju istim recenzentima. Prihvaćeni radovi ne moraju se objavljivati onim redom kojim pristižu. Izneseni stavovi predstavljaju mišljenje autora.

Rukopisi se ne vraćaju, a svi tiskani prilozi vlasništvo su Hrvatskoga liječničkog zbora. Sadržaj *Liječničkog vjesnika* može se reproducirati uz navod „preuzeto iz Liječničkog vjesnika".

Svaki objavljeni članak dobiva svoj DOI *(Digital Object Identifier)* koji je jedinstven za svaki članak objavljen u *Liječničkom vjesniku*. Uredništvo će osigurati svakom autoru (ili autoru koji je zadužen za korespondenciju ako je grupa autora prijavila rad) jednu kopiju *Liječničkog vjesnika*.

a clear mark showing which is the upper side of the figure. Each illustration should be numbered consecutively according to the order in which it appears in the text, and a clear mark showing which is the upper side of the illustration. Illustrations should be made in a quality appropriate for print publication. Photocopied images or photographs are not suitable for reproduction. Photographs of individuals will be published only with the written consent of the person photographed (or his/her guardian), or the individual should be rendered unrecognizable (concealing the eyes, face, etc.). If a figure is taken from other sources, permission for such reproduction obtained from the respective editor/author should be submitted.

If submitted in electronic format, figures/illustrations should be in a high resolution TIFF or JPEG file format, a minimum of 1,500 pixels wide. Figures/illustrations submitted in other formats may be accepted only with the prior consent of the editorial board. The editorial board reserves the right not to publish any figures/illustrations that fail to meet the above requirements.

- Figures (photographs, graphs, images…) should be submitted separately, in as high a quality and resolution as possible (.tif, .png). Each figure in the text, in addition to its own title, should have a generic title (Figure 1). The generic title should include an ordinal number expressed as an Arabic numeral, numbered consecutively according to the order in which it appears in the text. Figure titles and descriptions are considered to be a part of the text, and not part of the figure/illustration. Therefore they should be included in the text, and not in the figure.
  (recommendations for formatting a manuscript to enable easier XML creation from the text)

14. ***References***

LV strictly follows the Vancouver citation style *(International Committee of Medical Journal Editors – Uniform Requirements for Manuscripts submitted to biomedical journals: Sample references at:* http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). References are cited in ordinal numbers, according to the order in which it appears in the text (the first reference cited is number 1). In manuscripts with six or less authors, all the authors should be listed; if there are seven authors, or more, the first six should be listed, followed by "i sur.". Journals should be cited with abbreviations as used by *Index Medicus* (http://www.pubmed.gov).

Citing references – examples:

Journal article

Golubić D, Rapić D, Breitenfeld V. Neka klinička, dijagnostička i terapijska zapažanja o humanoj trihinelozi [Some clinical, diagnostic and therapeutic observations on human trichinellosis]. Liječ Vjesn. 1985;107:11–4. Croatian.

Journal supplement

Lundstrom I, Nylander C. An electrostatic approach to membrane bound receptors. Period Biol. 1983;85(Suppl 2):53–60.

Books and monographs

Individual author(s)

Eisen HN. Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response. 5th ed. New York: Harper and Row; 1974, p. 406.

Editor

Dausset J, Colombani J, editor. Histocompatibility testing. Copenhagen: Munksgaard; 1973, pp. 12–8.

Chapter in a book

Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA jr, Sodeman WA, editor. Pathogenic physiology: mechanism of disease. Philadelphia: WB Saunders; 1974, pp. 457–72.

Article on the Internet

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about p. 3]. Available from: http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm

15. ***Letter of submission***

The letter of submission should include the name, address and telephone number (landline and mobile) of the corresponding author who will communicate with the LV editorial board, and will be responsible for arranging the necessary amendments with other authors. The type of article should be stated in the letter. The filled-in Checklist for Authors, the Statement of Authorship, and the Conflict of Interest Statement must be enclosed with the letter (https://lijecnicki-vjesnik.hlz.hr). Manuscripts submitted without these enclosures will not be considered.

16. ***Acknowledgements***

All contributors who do not meet the criteria for authorship, such as persons who have provided technical help, or support in general, should be listed under Acknowledgements. Financial and material support should also be listed.

REVIEW PROCESS

Each manuscript is treated as highly confidential material, and the review process is performed anonymously. The submitted manuscripts are firstly assessed by the editorial board, and then sent to a minimum of two reviewers for a double-blind peer review. Each submitted manuscript is assigned a number and an ID. The authors are informed that the manuscript has been received and a number assigned. The authors are obliged to use such an ID number in all correspondence. A corresponding author acts on behalf of the others in the process related to the manuscript's publication. Manuscripts and other submitted material are not returned to senders.

After all the submitted reviews have been considered by the editorial board, they are returned to the author(s) for checking and amendment. The amended manuscript may be resent for another revision to the same reviewers, depending on the nature of the reviewers' comments. Accepted manuscripts are not necessarily published in the order in which they are received. The views expressed are those of the author. Manuscripts are not returned, and all printed contributions are owned by the Croatian Medical Association. The contents of *Liječnički vjesnik* may be reproduced providing the source is acknowledged in the form: "taken from Liječnički vjesnik".

Each published article is assigned a DOI (Digital Object Identifier), a unique identifier for every article published in *Liječnički vjesnik*. The editorial board provides one copy of *Liječnički vjesnik* for each author (or for a corresponding author, if the manuscript was submitted by a group of authors).

Liječ Vjesn 2022;144:67–71
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-1

Preporuke | Recommendations

Preporuke za prevenciju infekcije humanim papilomavirusima (HPV) u primatelja bubrežnog presatka Hrvatskog društva za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju

Recommendations for prevention of human papillomavirus (HPV) infection in kidney transplant recipients of the Croatian Society for Nephrology, Dialysis and Transplantation

Marijana Gulin[1], Lada Zibar[2,3]✉, Željko Huljev[4], Ksenija Vučur[2], Mario Laganović[5,6]

[1] Opća bolnica Šibenik, Šibenik
[2] Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[3] Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek
[4] Hrvatski zavod za javno zdravstvo Šibensko-kninske županije, Šibenik
[5] Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb
[6] Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Deskriptori
PAPILOMAVIRUSNE INFEKCIJE – komplikacije, prevencija, virologija; HUMANI PAPILOMAVIRUS – patogenost; TRANSPLANTACIJA BUBREGA – imunologija; IMUNOSUPRESIJA – neželjeni učinci; PRIMATELJI TRANSPLANTATA; IMUNOKOMPROMITIRANI BOLESNIK; CJEPIVA PROTIV HUMANOG PAPILOMAVIRUSA; SMJERNICE ; HRVATSKA

SAŽETAK. Zaraza humanim papilomavirusom (HPV) učestala je u populaciji te ukoliko imunosni sustav ne uspije uništiti virus, perzistirajuća infekcija visokorizičnim onkogenim tipovima HPV-a povećava rizik razvoja karcinoma. Iako ne postoji specifično liječenje, zaraza HPV-om može se spriječiti cijepljenjem. Bolesnici s presađenim bubregom imaju veći rizik za perzistentnu infekciju HPV-om i razvoj komplikacija zbog cjeloživotne imunosupresije u odnosu na opću populaciju. Sukladno preporukama brojnih stručnih društava donosimo hrvatske preporuke za cijepljenje protiv zaraze HPV-om u primatelja bubrežnog presatka.

Descriptors
PAPILLOMAVIRUS INFECTIONS – complications, prevention and control, virology; ALPHAPAPILLOMAVIRUS – pathogenicity; KIDNEY TRANSPLANTATION – immunology; IMMUNOSUPPRESSION – adverse effects; TRANSPLANT RECIPIENTS; IMMUNOCOMPROMISED HOST; PAPILLOMAVIRUS VACCINES; PRACTICE GUIDELINES AS TOPIC; CROATIA

SUMMARY. Human papillomavirus (HPV) infection is common in general population. Persistent infection caused by a high-risk oncogenic HPV increases the risk of developing cancer unless body's immune system resolves infection. Although there is no specific treatment, HPV infection can be prevented by vaccination. Kidney transplant recipients are at increased risk for HPV persistent infection and developing complications due to lifelong immunosuppression, as compared with general population. In line with recommendations from different scientific societies, herein we present the Croatian guidelines for HPV vaccination in kidney transplant recipients.

Humani papilomavirus (HPV) je mali virus koji se sastoji od dvolančane, kružne deoksiribonukleinske kiseline (DNK), a koji nakon ugradnje u stanice domaćina može izazvati stanično bujanje i nastanak dobroćudnih ili zloćudnih tumora. Danas je poznato više od 200 tipova HPV-a. S obzirom na mogućnost izazivanja različitih bolesti u humanoj populaciji razlikujemo genitalni HPV (uzrokuje promjene u anogenitalnom području), kožni HPV (uzrokuje bradavice na koži) i ostale skupine HPV-a neodređenog rizika.[1,2]

Genitalni HPV se prema sposobnosti izazivanja dobroćudnih i zloćudnih epitelnih tumora dijeli u visokorizične i niskorizične tipove.

Visokorizični onkogeni tipovi (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 68 i 69) uzrokuju patohistološke promjene niskog stupnja, prekanceroze i karcinom u anogenitalnom području (vrat maternice, rodnica, penis, anus), ali i glave i vrata (usta, ždrijelo).

Niskorizični neonkogeni tipovi (6, 11, 42, 43 i 44) uzrokuju patohistološke promjene niskog stupnja i spolne bradavice.

Kožni tipovi HPV-a (1, 2, 3, 4, 10, 26, 27, 28, 29, 41, 49 i 57) uzrokuju „obične" bradavice na koži ruku, stopala, vrata i drugdje na tijelu.

Zaraza HPV-om je toliko česta da gotovo nema osobe koja neće biti zaražena nekim od tipova HPV-a tijekom života, nerijetko i s više tipova istovremeno. Simptomi se mogu razviti godinama nakon zaražavanja. Tijekom tog razdoblja zaražena osoba kontaktom (običnim i spolnim) prenosi virus na druge osobe.[3] U većini slučajeva imunosni sustav uništi virus (50% zaraženih eliminira virus unutar šest mjeseci, 70% unutar godinu dana i 90% unutar dvije godine) i osoba nema znakova bolesti ili zaraze. U 10% zaraženih, koji ne uspiju eliminirati virus iz organizma, perzistirajuća infekcija visokorizičnim onkogenim tipovima HPV-a

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prof. prim. dr. sc. Lada Zibar, dr. med., https://orcid.org/0000-0002-5454-2353
Zavod za nefrologiju, Klinička bolnica Merkur, Zajčeva 19, 10000 Zagreb,
e-pošta: ladazibar@gmail.com

Primljeno 7. travnja 2021., prihvaćeno 7. prosinca 2021.

dovodi do ugradnje virusnih onkoproteina u stanice i tkiva, uz povećan rizik od razvoja karcinoma. U žena najčešće nastaju reaktivne i displastične promjene u stanicama spolne sluznice, najčešće na površini i u kanalu vrata maternice, na rodnici i stidnici, dok se u muškaraca klinički znakovi infekcije najčešće očituju kao genitalne bradavice – kondilomi (lat. *condyloma acuminata*).[2] Povezanost HPV-a i karcinoma vrata maternice istraživao je te 1983. godine i dokazao njemački znanstvenik prof. Harald zur Hausen, za što je (tek) 2008. godine dobio Nobelovu nagradu.[4] HPV 16 i 18 odgovorni su za oko 70% invazivnog karcinoma ušća maternice, a HPV 6 i 11 za čak 90% anogenitalnih bradavica.[5]

Zaraza HPV-om može se dijagnosticirati kliničkim, citološkim ili histološkim pregledom te uporabom metoda molekularne biologije kao što je lančana reakcija polimeraze (engl. *polymerase chain reaction, PCR).* Ginekološko-citološkim Papanicolauovim (PAPA) testom otkrivaju se i stupnjuju promjene u stanicama vrata maternice znane kao cervikalna intraepitelna neoplazija (engl. *cervical intraepithelial neoplasia*, CIN).[2,3]

Mogućnost prevencije zaraze i posljedičnih onkoloških bolesti uzrokovanih HPV-om

Ne postoji specifično liječenje za zarazu HPV-om, ali se zaraza HPV-om može spriječiti cijepljenjem.

Od 2006. godine prema preporukama Savjetodavnog povjerenstva za praksu cijepljenja (engl. *Advisory Committee on Immunization Practices*, ACIP) provodi se cijepljenje djevojaka (optimalno prije stupanja u spolne odnose), a od 2011. godine i mladića; najnovije preporuke Europskog centra za sprječavanje i nadzor bolesti (engl. *European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC) iz 2020. godine poseban naglasak stavljaju na važnost cijepljenja muške populacije.[6,7] U Hrvatskoj je cijepljenje protiv zaraze HPV-om dostupno od 2008. godine, a od 2015. godine provodi se prema Programu imunizacije Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) u djevojčica i dječaka u osmom razredu osnovne škole (neobvezno preporučljivo cijepljenje, od 2017. godine na teret Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje – HZZO-a).[8]

U Hrvatskoj su registrirana tri cjepiva protiv zaraze HPV-om: 2-valentno (*R Cervarix Glaxo Smith Kline*), 4-valentno (*R Silgard / Gardasil Merck Sharp & Dohme*) i 9-valentno (*R Gardasil 9 Merck Sharp & Dohme*). Sva tri cjepiva štite od zaraze tipovima 16 i 18, koji uzrokuju više od 70% karcinoma vrata maternice. Četverovalentno cjepivo uz tipove 16 i 18 sadrži još i tipove 6 i 11, koji najčešće uzrokuju genitalne bradavice, dok 9-valentno cjepivo pored tipova 16, 18, 6 i 11 sadrži još i 31, 33, 45, 52 i 58, koji također spadaju u onkogene tipove.[9] U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) od kraja 2016. godine, a u Hrvatskoj od 2019. godine, cijepljenje se provodi 9-valentnim cjepivom. Sva se tri cjepiva pripravljaju iz visoko pročišćenih čestica bjelančevina L1 nalik virusu. Proizvode se u stanicama kvasca (*Saccharomyces cerevisiae* CANADE3C-5 soj 1895) tehnologijom rekombinantne DNK i adsorbiraju na adjuvans amorfni aluminijev hidroksifosfat sulfat. Ove čestice nalik virusu ne sadrže virusnu DNK, ne mogu zaraziti stanice, razmnožavati se niti uzrokovati bolesti.[6,9]

Velik je broj istraživanja koja su potvrdila učinkovitost cjepiva u smanjivanju nastanka genitalnih bradavica, prekanceroza i zaraze HPV-om 16 i 18 u cijepljenoj populaciji. Suprotno tomu, ali očekivano, brojna su istraživanja pokazala da nema smanjenja bolesti u osoba koje nisu cijepljene.[9]

Cjepivo protiv HPV-a nije terapijsko cjepivo i nema učinka na postojeće promjene uzrokovane tipovima HPV-a uključenim u cjepivima. S obzirom na to da je najčešći put prijenosa onkogenih tipova HPV-a spolni odnos, optimalna učinkovitost cjepiva (značajno smanjenje rizika) postiže se kod cijepljenja osoba prije stupanja u spolne odnose.[6,9]

Prema randomiziranim kliničkim istraživanjima učinkovitost cjepiva je 98–100%.[6,10] Primjena je preporučena u osoba oba spola, starosti od devet do 26 godina, protiv sljedećih bolesti uzrokovanih HPV-om: premalignih lezija i raka koji zahvaćaju vrat maternice, stidnicu i rodnicu kod ženskog spola, anus u oba spola, te genitalnih bradavica u oba spola.[6] Noviji literaturni podaci navode 88-postotnu učinkovitost 9-valentnog cjepiva u osoba do 45 godina života.[11] Štoviše, preporuke ACIP-a iz 2019. godine, temeljene na istraživanju Meistesa i suradnika, navode i dobrobit od cijepljenja 9-valentnim cjepivom žena koje su prethodno cijepljene 4-valentnim cjepivom protiv zaraze HPV-om; nakon tri doze 9-valentnog cjepiva u 98% cijepljenih žena dokazana su protutijela protiv pet dodatnih tipova HPV-a sadržanih u 9-valentnom cjepivu (tipovi 31, 33, 45, 52 i 58).[6]

Prema dosadašnjim istraživanjima cijepljenje protiv HPV-a stvara dugotrajnu zaštitu, dulju od 10 godina, no ostaje upitno hoće li u budućnosti biti potrebe za docjepljivanjem dodatnom, tzv. dozom "*booster*". Serološki testovi za potvrdu zaraze HPV-om ili učinkovitosti cijepljenja ne primjenjuju se u kliničkoj praksi, nego u istraživačkim laboratorijima, pa se tako ne proporučuju ni prije cijepljenja. Prije provođenja cijepljenja nije potrebno učiniti test na trudnoću niti PAPA test, ali se ne umanjuje izuzetna važnost redovitih ginekoloških pregleda u necijepljenih, ali i cijepljenih osoba.

Prevencija zaraze i posljedičnih zloćudnih bolesti uzrokovanih HPV-om u primatelja bubrežnog presatka

Bolesnici koje očekuje liječenje transplantacijom izloženi su većem riziku od komplikacija zaraze HPV-om zbog cjeloživotne imunosupresije.[12–15] Literatura navodi da imunosuprimirani primatelji organa imaju veću prisutnost HPV-a u usnoj šupljini, veću prevalenciju genitalnih bradavica, veću incidenciju karcinoma pločastih stanica kože uzrokovanog HPV-om te značajno povećan rizik od cervikalnih i analnih karcinoma.[12,16,17] Stopa anogenitalne bolesti može se povećati od 14 do 100 puta.[12]

Iako se rutinski programi cijepljenja protiv zaraze HPV-om provode širom svijeta (prema podatcima ECDC-a iz 2018. godine u 93,5% europskih zemalja) preporuke proširene na osobe velikog rizika za perzistentnu infekciju HPV-om kao što su primatelji solidnih organa, primatelji hematopoetskih matičnih stanica, osobe zaražene virusom humane imunonedostatnosti (engl. *human immunodeficiency virus*, HIV), znatno se razlikuju u europskim zemljama, ali i diljem svijeta.[18,19]

Španjolski autor Martínez-Gómez sa skupinom suradnika objavio je 2019. godine članak temeljen na sustavnom pregledu imunogenosti, sigurnosti i učinkovitosti cijepljenja protiv HPV-a u visokorizičnoj populaciji u razdoblju od siječnja 2006. do lipnja 2016. godine. Iako to nisu brojni podatci o nerutinskom cijepljenju protiv HPV-a u primatelja solidnih organa u razdoblju prije ili nakon transplantacijskog liječenja pa je kakvoća dokaza mala, preporuka o provođenju cijepljenja je jaka.[18]

Američko društvo za zarazne bolesti (engl. *Infectious Diseases Society of America*, IDSA) još 2013. godine preporučuje liječnicima da razmotre provedbu cijepljenja protiv zaraze HPV-om u primatelja solidnih organa u dobi od 11 do 26 godina (6 do 12 mjeseci nakon transplantacije).[20] Na istom su tragu i preporuke ACIP-a, koje preporučuju cijepljenje primatelja organa još mlađe životne dobi, od 9 do 26 godina, a najnovije preporuke iz lipnja 2019. godine preporučuju cijepljenje primatelja organa i do 45. godine života.[6] Španjolski konsenzus o cijepljenju imunokompromitiranih bolesnika protiv zaraze HPV-om iz 2019. godine preporučuje cijepljenje bolesnica do 26. godine života, uz naglasak provođenja cijepljenja prije transplantacijskog liječenja.[18]

Odgovor na provedeno cijepljenje – imunogenost cjepiva u potencijalnih primatelja bubrežnog presatka – komplementaran je zdravoj populaciji.[21,22] Članak Gomeza i Lobe iz 2016. godine upućuje na izvrsne rezultate cijepljenja 20 adolescenata, primatelja jetre i bubrega, koji su primili 4-valentno cjepivo protiv HPV-a prije transplantacijskog liječenja i imali su odgovor na cijepljenje identičan zdravim kontrolama.[23]

Rijetka su istraživanja o imunogenosti cjepiva protiv HPV-a nakon transplantacijskog liječenja i uglavnom su provedena 4-valentnim cjepivom. Imunogenost cjepiva protiv HPV-a nakon transplantacijskog liječenja očekivano je manja kako u usporedbi s općom populacijom, tako i u usporedbi s bolesnicima koji tek očekuju transplantacijsko liječenje.[21,24] U istraživanju Danziger-Isakove uključeno je 50 transplantiranih bolesnika starosti od 18 do 35 godina cijepljenih 4-valentnim cjepivom protiv HPV-a; u 70% cijepljenih dokazana su specifična protutijela, a odgovor je ovisio o vremenu i vrsti transplantacije.[21] Seropozitivnost nakon cjepiva protiv HPV-a bila je u širokom rasponu od 33 do 80% u 23 bolesnika s presađenim bubregom u dobi od 9 do 21 godine, dok je u drugom istraživanju u koje je uključeno 47 transplantiranih bolesnika iznosila 52–68%, a lošiji odgovor na cijepljenje imali su bolesnici s većom razinom imunosupresiva – takrolimusa.[22,24]

Preporuka je provesti cijepljenje u prijetransplantacijskom razdoblju, dok se ne primjenjuje imunosupresivno liječenje, i završiti ga najmanje dva tjedna prije transplantacijskog liječenja. Cjepivo se može primijeniti i u poslijetransplantacijskom razdoblju (najranije tri mjeseca, no prema većini preporuka 6 do 12 mjeseci nakon transplantacije).

Plan i provedba cijepljenja protiv zaraze i posljedičnih zloćudnih bolesti uzrokovanih HPV-om u primatelja bubrežnog presatka

Preporuka za provođenje i shema cijepljenja primatelja bubrežnog presatka protiv HPV-a temeljena je na smjernicama brojnih transplantacijskih, infektoloških i nefroloških društava, a naslanja se i na preporuke Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organisation*, WHO):

- Američko društvo za transplantaciju (engl. *American Society of Transplantation*, AST)[21];
- IDSA[20];
- ACIP[6];
- Bubrežna bolest: poboljšanje globalnih ishoda (engl. *Kidney disease improving global outcomes*, KDIGO)[25].

Prema Programu HZJZ-a iz 2019. godine o provođenju aktivne imunizacije, seroprofilakse, kemoprofilakse zaraznih bolesti, na preporuku Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske, cijepljenje protiv zaraze HPV-om nije obvezno, ali je preporučljivo (za djevojčice i dječake u osmom razredu osnovne škole na teret HZZO-a, distribucija putem zavoda za javno zdravstvo).[9]

Tablica 1. Shema cijepljenja 9-valentnim cjepivom protiv HPV-a
Table 1. Vaccination schedule with 9-valent HPV vaccine

Dob 9 – 15 godina / Age 9-15 years	Dob > 15 godina / Age > 15 years
2 doze 0 i 6 – 12 mjeseci / 2 doses: 0, and 6-12 months	3 doze: 0, 1 – 2 mjeseca i 6 mjeseci / 3 doses: 0, 1-2 months, and 6 months

Preporuka za cijepljenje protiv zaraze HPV-om u primatelja bubrežnog presatka:

1. bolesnici/e u dobi od 9 do 45 godina života koji su kandidati za transplantacijsko liječenje, a nisu prethodno cijepljeni protiv zaraze HPV-om;
2. bolesnici/e u dobi od 9 do 45 godina života nakon bubrežne presadbe (najranije šest mjeseci nakon transplantacije, a nisu prethodno cijepljeni protiv zaraze HPV-om).

Preporuka za fakultativno cijepljenje protiv zaraze HPV-om u primatelja bubrežnog presatka:

- bolesnice u dobi do 45. godine života koje su kandidatkinje za transplantacijsko liječenje, a prethodno su cijepljene protiv zaraze HPV-om 2-valentnim ili 4-valentnim cjepivom, može se dodatno cijepiti 9-valentnim cjepivom.

Preporučuje se cijepljenje provesti 9-valentim cjepivom protiv HPV-a (R Gardasil 9-Merck Sharp & Dohme) (volumen 0,5 ml, sadrži 20 – 60 μg 9 L1 proteina).

- Cjepivo treba primijeniti intramuskularno u deltoidno područje nadlaktice ili gornje anterolateralno područje bedra (ne intravaskularno, subkutano ili intradermalno).
- Cjepivo se ne smije miješati u istoj štrcaljki s drugim cjepivima i otopinama.
- Opće kontraindikacije za cijepljenje su akutne bolesti, febrilna stanja i preosjetljivost na sastavnice cjepiva.
- Cjepivo je potrebno primijeniti s oprezom osobama s trombocitopenijom ili poremećajem zgrušavanja krvi jer intramuskularna primjena cjepiva može dovesti do krvarenja.
- Nuspojave su uglavnom blagog do umjerenog intenziteta, najčešće su reakcije na mjestu primjene injekcije (bol, crvenilo ili oteklina), povišena tjelesna temperatura, glavobolja, umor i bol u mišićima ili zglobovima.
- 9-valentno cjepivo protiv HPV-a primjenjuje se u dvije doze u osoba starih 9 – 15 godina (0, 6–12 mjeseci), a u osoba starijih od 15 godina primjenjuju se tri doze (0, 1–2, 6 mjeseci) (tablica 1). Drugu dozu treba primijeniti najmanje mjesec dana nakon prve doze, a treću dozu treba primijeniti najmanje tri mjeseca nakon druge doze. Neovisno provodi li se cijepljenje s dvije ili tri doze, potrebno ih je primijeniti u razdoblju od najviše godine dana.
- Osobe koje su prethodno cijepljene s tri doze 4-valentnog cjepiva (R Silgard/ Gardasil) mogu primiti tri doze 9-valentnog cjepiva.

Zaključak

Iako se cijepljenje smatra jednom od najdjelotvornijih i najisplativijih javnozdravstvenih mjera koje se mogu poduzeti, stopa cijepljenja može biti bolja no što je trenutačno. Dok je u više od 90% europskih zemalja, pa tako i u Hrvatskoj, preporučeno cijepljenje protiv zaraze HPV-om u adolescentnoj dobi, preporuke cijepljenja bolesnika potencijalnih primatelja organa znatno su suzdržanije. Poučeni dugogodišnjim kliničkim radom s transplantiranim bolesnicima, povećanom učestalosti genitoanalnih i kožnih tumora, a ohrabreni međunarodnim preporukama, čvrsto preporučujemo provesti cijepljenje protiv zaraza uzrokovanih HPV-om u primatelja bubrežnog presatka, poželjno prije, ali učinkovito i sigurno i nakon transplantacijskog liječenja.

LITERATURA

1. *Szymonowicz KA, Chen J.* Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. Cancer Biol Med. 2020;17:864–78.
2. *Choi YJ, Park JS.* Clinical significance of human papillomavirus genotyping. J Gynecol Oncol. 2016;27:e21.
3. *Žuža-Jurica S, Dabo J, Utješinović-Gudelj V, Oluić-Kabalin G, Mozetić V.* Humani papiloma virus (HPV): Prevencija – cijepljenje – liječenje = Human papillomavirus (HPV): Prevention – vaccination – treatment. Med Flum. 2009;45:49–55.
4. *Mammas IN, Spandidos DA.* Paediatric Virology as a new educational initiative: An Interview with Nobelist Professor of Virology Harald zur Hausen. Exp Ther Med. 2017;14:3329–31.
5. *Lowy DR, Schiller JT.* Prophylactic human papillomavirus vaccines. J Clin Invest. 2006;116:1167–73.
6. *Meites E, Szilagyi PG, Chesson HW, Unger ER, Romero JR, Markowitz LE.* Human Papillomavirus Vaccination for Adults: Updated Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2019;68:698–702.
7. *European Centre for Disease Prevention and Control.* Guidance on HPV Vaccination in EU Countries: Focus on Boys, People Living with HIV and 9-Valent HPV Vaccine Introduction, 2020. Stockholm: ECDC; 2020.
8. *Pavić Šimetin I, Belavić A, Žehaček Živković M.* Organizacija promicanja cijepljenja protiv HPV infekcije na nacionalnoj razini. Paediatr Croat. 2018;62:9–13.
9. *Hrvatski zavod za javno zdravstvo.* Cijepljenje protiv humanog papiloma virusa (HPV). Dostupno na: https://www.hzjz.hr/aktualnosti/cijepljenje-protiv-humanog-papiloma-virusa-hpv-2018-2019/. Pristupljeno 10. 2. 2021.
10. *Harper DM, Franco EL, Wheeler CM, Moscicki AB, Romanowski B, Roteli-Martins CM i sur.* Sustained efficacy up to

45 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. Lancet. 2006;367:1247–55.

11. *Castellsagué X, Muñoz N, Pitisuttithum P, Ferris D, Monsonego J, Ault K i sur.* End-of-study safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent HPV (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine in adult women 24–45 years of age. Br J Cancer. 2011;105:28–37.
12. *Meeuwis KA, Melchers WJ, Bouten H, van de Kerkhof PC, Hinten F, Quint WG i sur.* Anogenital malignan-cies in women after renal transplantation over 40 years in a single center. Transplantation. 2012;93:914–22.
13. *Patel HS, Silver AR, Levine T, Williams G, Northover JM.* Human papillomavirus infection and anal dysplasia in renal transplant recipients. Br J Surg. 2010;97:1716–21.
14. *Larsen HK, Thomsen LT, Haedersdal M, Dehlendorff C, Schwartz Sørensen S, Kjaer SK.* Risk of genital warts in renal transplant recipients – A registry-based, prospective cohort study. Am J Transplant. 2019;19:156–65.
15. *Paternoster DM, Cester M, Resente C, Pascoli I, Nanhorngue K, Marchini F i sur.* Human papilloma virus infection and cervical intraepithelial neoplasia in transplanted patients. Transplant Proc. 2008; 40:1877–80.
16. *Rose B, Wilkins D, Li W, Tran N, Thompson C, Cossart Y i sur.* Human papillomavirus in the oral cavity of patients with and without renal transplantation. Transplantation. 2006;82: 570–3.
17. *Hinten F, Hilbrands LB, Meeuwis KAP, IntHout J, Quint WGV, Hoitsma AJ i sur.* Reactivation of Latent HPV Infections After Renal Transplantation. Am J Transpl. 2017;17:1563–73.
18. *Martínez-Gómez X, Curran A, Campins M, Alemany L, Rodrigo-Pendás JÁ, Borruel N i sur.* Multidisciplinary, evidence-based consensus guidelines for human papillomavirus (HPV) vaccination in high-risk populations, Spain, 2016. Euro Surveill. 2019;24(7):pii=1700857.
19. *Youn Jeong Kim YJ, Kim SII.* Vaccination strategies in patients with solid organ transplant. Clin Exp Vaccine Res. 2016;5: 125–31.
20. *Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, Davies EG, Avery R, Tomblyn M i sur.* 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. Clin Infect Dis. 2014;58:309–18.
21. *Danziger-Isakov L, Kumar D, Practice AICo.* Vaccination of solid organ transplant candidates and recipients: Guidelines from the American Society of Transplantation infectious diseases community of practice. Clin Transplant. 2019;33:e13563.
22. *Nelson DR, Neu AM, Abraham A, Amaral S, Batisky D, Fadrowski JJ.* Immunogenicity of human papillomavirus recombinant vaccine in children with CKD. Clin J Am Soc Nephrol. 2016;11:776–84.
23. *Gomez-Lobo V, Whyte T, Kaufman S, Torres C, Moudgil A.* Immunogenicity of a prophylactic quadrivalent human papilloma-virus L1 virus-like particle vaccine in male and female adolescent transplant recipients. Pediatr Transplant. 2014;18: 310–5.
24. *Kumar D, Unger ER, Panicker G, Medvedev P, Wilson L, Humar A.* Immunogenicity of Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine in Organ Transplant Recipients. Am J Transplant. 2013;13: 2411–7.
25. *Eckardt KU, Kasiske BL.* Kidney disease: improving global outcomes. Nat Rev Nephrol. 2009;5:650–7.

Vijest | News

HRVATSKO DRUŠTVO ZA LIJEČENJE BOLI
– HRVATSKOGA LIJEČNIČKOGA ZBORA

organizira

V. HRVATSKI KONGRES IZ LIJEČENJA BOLI
s međunarodnim sudjelovanjem

od 26. do 28. svibnja 2022. godine
Zagreb, Hotel International Zagreb

Program kongresa obuhvaća teme:

- COVID 19 i bol
- akutna bol
- mišićno-koštana bol
- neuropatska bol
- karcinomska bol
- multidisciplinarno liječenje boli
- intervencijski zahvati u liječenju boli (predavanja i radionice)

TEHNIČKI ORGANIZATOR: Globtour Event d.o.o. Trg Nikole Šubića Zrinskog 1/1, 10000 Zagreb

OSOBA ZA KONTAKT: Ana Skolan (ana.skolan@globtour.hr; mice@globtour.hr; mob. +385 91 370 35 53)

WEB STRANICA: https://hdlb2022.get2.events/
https://hdlb.org/

Liječ Vjesn 2022;144:72–78
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-2

Izvorni rad | Original article

Kirurško liječenje gigantskih bazocelularnih karcinoma lica: naše iskustvo

Surgical treatment of giant basal cell carcinoma of the face: our experience

Ivan Kovačić[1]✉, Marijan Kovačić[2], Marija Kera[2], Tamara Tačigin[3]

[1] Služba za kirurgiju, Opća bolnica Zadar, Zadar
[2] Odjel za otorinolaringologiju, Opća bolnica Zadar, Zadar
[3] Odjel za otorinolaringologiju, Opća bolnica Pula, Pula

Deskriptori
BAZOCELULARNI KARCINOM – kirurgija, patologija;
TUMORI KOŽE – kirurgija, patologija;
TUMORI LICA – kirurgija, patologija;
REKONSTRUKCIJSKI KIRURŠKI ZAHVATI – metode;
ISHOD LIJEČENJA

SAŽETAK. Gigantski bazocelularni karcinom (GBCC) rijetki je tumor kože veličine 5 i više cm. Glavnim čimbenicima njegova nastanka smatraju se zapostavljanje konvencionalnoga bazocelularnog karcinoma (BCC) od strane bolesnika i/ili biološka agresivnost tumora. Svojim sporim infiltrativnim rastom narušavaju strukturni i funkcionalni integritet zahvaćenog područja. Za njegovo liječenje, bez obzira na lokalizaciju, ne postoje usvojene smjernice i još uvijek predstavlja terapeutski problem. U ovom radu analizirali smo karakteristike bolesnika i tumora kao i njegov odgovor na kirurško liječenje. Od ukupnog broja bolesnika s BCC-om glave i vrata u periodu od 11 godina izdvojili smo njih 24 s GBCC-om lica. Svi su bili treće životne dobi u rasponu od 65 do 86 godina, većinom siromašni, skloni alkoholu i depresiji. Veličina i površina tumora u središnjem dijelu lica bila je nešto manja nego u postraničnom dijelu. Prevladavao je muški spol u omjeru 1,4:1. Sve smo bolesnike podvrgnuli kirurškom liječenju odstranjenja tumora s histološki slobodnim rubovima te je istovremeno izvršena i rekonstrukcija nastalog defekta. Za vrijeme praćenja od prosječno 36 mjeseci nismo imali povrat bolesti niti pojavu metastaza, a funkcionalni i estetski rezultat bio je dobar. Histološki su u većini slučajeva bili neagresivni podtipovi tumora (nodularni), a vrijeme trajanja bolesti jest prosječno 5,9 godina. Za nastajanje GBCC-a kod naših bolesnika uglavnom teretimo njihov indolentan stav prema bolesti. GBCC se može uspješno kirurški liječiti i u tako zahtjevnom području kao što je lice i bez obzira na starosnu dob bolesnika.

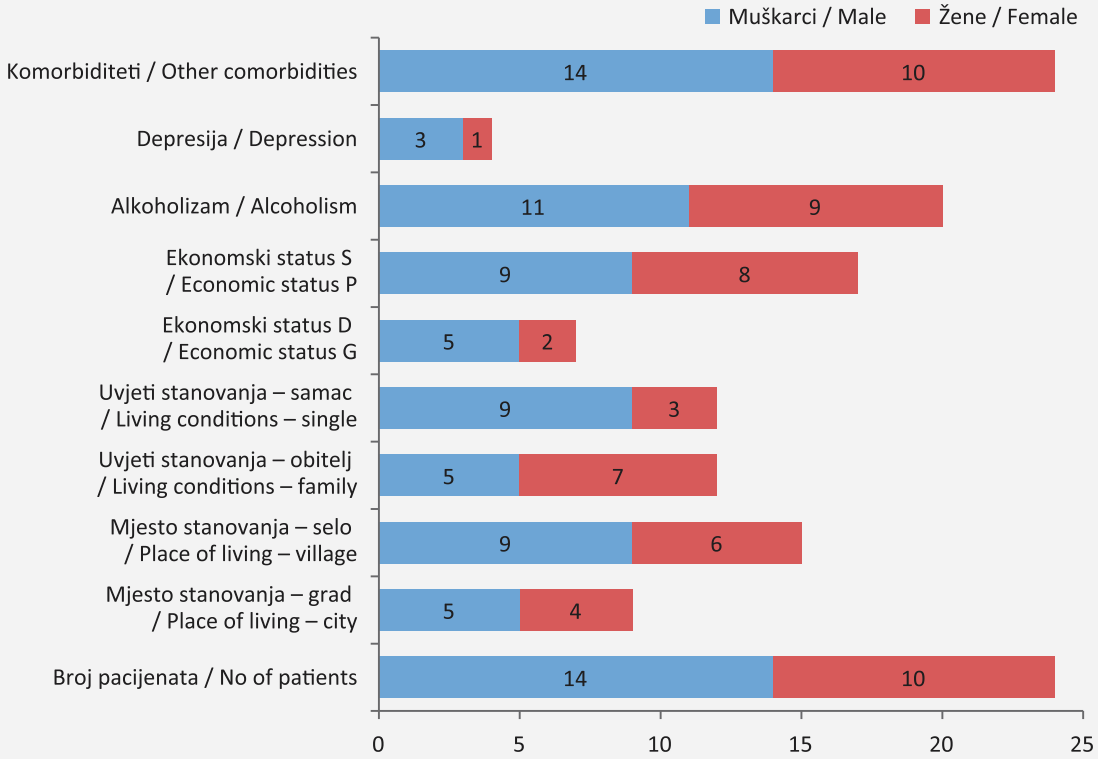
Descriptors
CARCINOMA, BASAL CELL – pathology, surgery;
SKIN NEOPLASMS – pathology, surgery;
FACIAL NEOPLASMS -– pathology, surgery;
RECONSTRUCTIVE SURGICAL PROCEDURES – methods;
TREATMENT OUTCOME

SUMMARY. Giant basal cell carcinoma (GBCC) is a rare skin tumor with the longest diameter greater than five cm.The main factors for its occurrence are considered to be the neglect of conventional basal cell carcinoma (BCC) by patients and the biological aggressiveness of the tumor. With its slow infiltrative growth it disrupts the structural and functional integrity of the affected area. There are no guidelines for its treatment regardless of localization and it still poses a therapeutic problem.In this study, we analyzed patient and tumor characteristics and response to GBCC surgical treatment. Of the total number of patients with BCC over a period of 11 years we isolated 24 cases with GBCC. All patients were in the third age range, from 65 to 86 years old, mostly poor, prone to alcohol and depression.The size and area of the tumor in the central part of the face were slightly smaller than in the lateral part. Male gender predominated (1.4:1). All patients underwent surgical resection of the tumor with histologically confirmed free margins, as the only method of treatment. Reconstruction of the resulting defect was performed in the same procedure . During the follow-up of 36 months on average no recurrence of the disease or metastasis in any of the patients was observed. Histological processing also defined the subtype of these tumors. Most were non-aggressive, nodular form tumors. Due to the duration of the disease, an average of 5.9 years, we believe that the greatest responsibility for the development of this subtype of BCC is the indolent attitude of the patient. Facial GBCC can be successfully treated surgically in such a demanding area as the face, and regardless of the patient's age.

Maligni tumori kože predstavljaju hetreogenu skupinu tumora. Mogu nastati bilo od kojega njenog sastavnog dijela. Najčešći je bazocelularni karcinom (BCC) koji je podrijetlom iz pluripotentnih stanica bazalnog sloja epidermisa i vanjske ovojnice korijena dlake.[1] Predominantno se javlja na lokacijama kože izložene suncu i kod starijih osoba. Njegova je incidencija u stalnom porastu diljem svijeta. Razlozi su jednostavni, životni vijek ljudi je duži, izloženost suncu sve veća, a dijagnostika sve bolja.[2] Obično se pojavljuje kao bezbolna nodularna ili ulcerozna promjena kože i ima izrazito niski metastatski potencijal. Ova vrsta raka kože u ranoj je fazi lako izlječiva, ali svako duže odlaganje ili neadekvatno liječenje može rezultirati njegovim širenjem u dublje slojeve kože i okolno

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prim. Marijan Kovačić, dr. med., https://orcid.org/0000-0003-0860-6923
Obala Kneza Branimira 2E, 23000 Zadar, e-pošta: mar.kova@yahoo.com

Primljeno 16. prosinca 2020., prihvaćeno 25. listopada 2021.



Mjesto i uvjeti stanovanja: G, grad; S, selo; O, obitelj; S, samac / Place and living conditions: C, city; V, village; F, family; S, single
Ekonomski status / Economic status: D, dobar; S, siromašan; G, good; P, poverty

Slika 1. Demografske karakteristike bolesnika
Figure 1. Demographic characteristics of patients

tkivo.[3] Kada tako zanemareni BCC dosegne ili premaši veličinu promjera od 5 cm, nazivamo ga gigantskim bazocelularnim karcinomom (GBCC). Ovaj se podtip BCC-a vrlo rijetko javlja. Njegova frekvencija je mala, oko 0,5% svih BCC-a. Za njegovo liječenje, bez obzira na lokalizaciju, ne postoje usvojenje smjernice i još uvijek predstavlja terapeutski problem.[4] U ovom radu iznosimo naša iskustva kirurškog liječenja GBCC-a lica i neposredne rekonstrukcije nastalog defekta u predstavljenoj grupi od 24 bolesnika. Predmet analize bile su karakteristike bolesnika, tumora i izbor metode rekonstrukcije. Naš pristup liječenja bio je usmjeren na potpuno uklanjanje tumora i ponovnu uspostavu narušene funkcije i estetskog izgleda bolesnika, što je umnogome poboljšalo njihovu kvalitetu života.

Bolesnici i metode

U ovoj deskriptivnoj retrospektivnoj studiji istražili smo pojavnost GBCC-a u naših bolesnika, koje smo kirurški liječili zbog BCC-a kože glave i vrata, u razdoblju od siječnja 2009. do prosinca 2019. godine. Izdvojili smo ukupno 24 bolesnika kojima je najduži promjer BCC-a bio veći od 5 cm. Razvrstali smo ispitanike po spolu, dobi, mjestu stanovanja, obiteljskom statusu, higijensko-ekonomskom nivou, prisutnosti alkoholizma, depresije i drugog komorbiditeta. Daljnja razdioba je izvršena prema karakteristikama tumora, njegovoj veličini, smještaju, prisutnosti metastaze te dužini vremena javljanja. Podijelili smo tumore na rekurentne i tumore *de novo*. S obzirom na operacijski zahvat izvršili smo razdiobu prema primijenjenoj anesteziji, metodi rekonstrukcije, komplikacijama, trajanju bolničkog liječenja kao i histološkim obilježjima. Tijekom praćenja bolesnika promatrana je pojava recidiva, kvaliteta života i socijalna integracija. Pojedine demografske i tumorske karakteristike analizirali smo statističkim postupkom (c^2 test) ispitivanja prisutnosti razlika na razini značajnosti ($p<0,05$).

Rezultati

Od ukupno 4.216 bolesnika kirurški liječenih zbog BCC-a kože glave i vrata, GBCC su imali njih 24 (0,57%). Svi tumori su bili u području lica i niti jedan bolesnik nije imao genodermatozu. Muški spol (14 bolesnika) bio je više zastupljen od žena (10 bolesnica). Dobni raspon se kretao od 65 do 86 godina, prosječne vrijednosti od 76,7 godina. S obzirom na mjesto stanovanja, u urbanoj sredini je živjelo njih 9, a u ruralnoj



Slika 2. 70-godišnja žena s GBCC-om medijalnog očnog kuta koji se proširio na gornji i donji kapak i u područje nosa (A). Nastali defekt nakon ablacije tumora (B). Konačni izgled bolesnice nakon rekonstrukcije s lokalnim režnjevima (C).
Figure 2. A 70-year-old woman with GBCC of medial canthus extending to the upper and lower eyelids and to the nasal area (A). Defect formed after tumor ablation (B). Final appearance of the patient after reconstruction with local flaps (C).

preostalih 15 bolesnika. Obiteljsku i/ili društvenu skrb imalo je pola bolesnika, a druga polovina njih su živjeli sami. Higijensko-ekonomski nivo je bio nizak u 17 bolesnika, a preostalih 7 su imali srednje kvalitetne uvjete života. Svi bolesnici su imali jednu ili više komorbidnih bolesti. Nijedan bolesnik nije bio liječeni alkoholičar, ali konzumiranje veće količine alkohola navelo je 11 muškaraca i 9 žena, dok je dodatno depresivni sindrom, potvrđen psihijatrijskim nalazima, imalo 4 bolesnika (slika 1). Mjesto primarnog sijela u području prednjeg lica, čela, periorbitalne regije, nosa, nazolabijalne brazde bilo je kod 9 bolesnika, a postranični dio lica, obraz, uška i sljepoočna regija u preostalih 15 bolesnika (slika 2 A, B, C, slika 3 A, B, C). Svi su imali promjer veći od 5 cm, prosječno 7,9 cm. Raspon se kretao od 12 cm do 5,2 cm. Površine tumora postraničnog dijela lica bile su značajno veće od površina prednjeg dijela lica. Ni u jednog bolesnika klinički ni ultrazvučno nije zabilježena prisutnost metastaza. Vremenski razmak od pojave tumora do kirurškog zahvata, po izjavi bolesnika ili njegove pratnje, varirao je u rasponu od 2 do 7 godina. Značajna većina njih je imala tumor *de novo* (75%), a samo kod šestoro GBCC je bio posljedica povrata bolesti (tablica 1). Svi bolesnici su samo kirurški liječeni. U općoj anesteziji učinili smo 16 zahvata, a preostalih 8 u lokalnoj anesteziji. Za rekonstrukciju koristili smo kožni slobodni transplantat u 2 bolesnika, jedan ili dva kožna lokalna režnja lica i vrata u 13, a u preostalih 9 bolesnika rekonstrukciju smo izveli s fasciokutanim i/ili s mišićnokutanim režnjevima u istom aktu. Kod svih bolesnika postignut je dobar estetski izgled i uspostavljena zadovoljavajuća narušena funkcija (nos, periorbitalna regija, usna šupljina). Histološkom analizom je potvrđena dijagnoza GBCC-a, a resekcijski rubovi su svi bili slobodni. Nodularni podtip je bio najčešći kod 12 (50%) bolesnika, mikronodularni u 3 (12,5%), a bazoskvamozni (metatipični) u 3 (12,5%) bolesnika. Kod preostalih 6 (25%) bolesnika podtip nije bio određen. Trajanje bolničkog liječenja prosječno je bilo 7,9 dana, nešto dulje kod bolesnica. Od ranih komplikacija imali smo upalu mjesta rekonstrukcije u 3 (12,5%) bolesni-



Slika 3. Žena stara 72 godine s ulceroznim GBCC-om obraza koji je penetrirao u usnu šupljinu, parotidnu žlijezdu i hrskavični dio zvukovoda (A). Nastali potpuni defekt nakon ablacije tumora (B). Postignuti rezultat rekonstrukcije nakon 36 mjeseci praćenja bolesnice. Rekonstrukcija je izvršena s dva regionalna režnja (C).

Figure 3. A 72-year-old woman with ulcerative GBCC of the face which penetrated into the oral cavity, parotid gland and cartilaginous part of the ear canal (A). The resulting complete cheek defect after tumor ablation (B). The result of reconstruction after 36 months of follow-up. Reconstruction was performed with a combination of two regional flaps of the island musculocutaneous flaps (C).

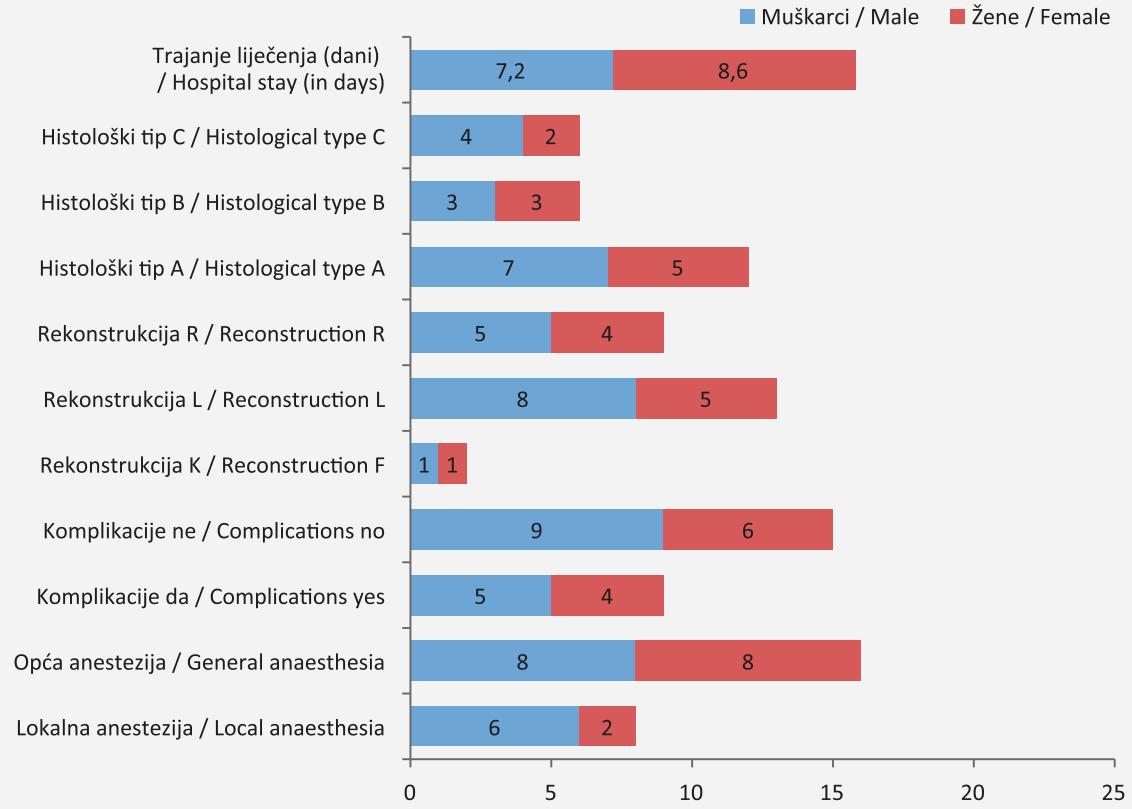
ka, a rubnu nekrozu manjeg obujma u 6 (25%) bolesnika (slika 4). Nije zabilježena komplikacija donatorskog mjesta, niti je izvršen drugi operacijski zahvat. Tijekom praćenja u rasponu od 17 do 84 mjeseca (prosječno 36 mjeseci) nismo zabilježili povrat bolesti, a kvaliteta života i socijalna integracija promatrana od strane članova obitelji i društvenih službi bila je poboljšana u svim slučajevima. Analiza bolesnika zasebno razvrstanih po spolu nije pokazala značajnu razliku niti jedne promatrane karakteristike, uključujući i ishod liječenja.

Rasprava

BCC je najčešća lokalna zloćudna lezija kože. Njegova incidencija je širom svijeta u porastu. Za njegov nastanak odgovorno je više čimbenika. Osim genetske predispozicije i pojedinih kemijskih kancerogena najveći utjecaj ima ultravioletno zračenje sunčane svjetlosti. Obično se javlja u starijih odraslih osoba i to u području glave i vrata, čak do 85% svih slučajeva.[5] Njegov rast je spor i mogućnost metastaziranja minimalna. Najpovoljnije standardno liječenje jest široka kirurška ekscizija. Svako zanemarivanje njegove prisutnosti i odugovlačenje početka liječenja može dovesti do rasta tumora velikih dimenzija. Kada njegov promjer dosegne ili premaši 5 cm, što predstavlja leziju T3 u TNM klasifikaciji, nazivamo ga GBCC. Drugi čimbenici nastanka ovog podtipa BCC-a još uvijek izazivaju proturječnost, kao što su histološka agresivnost tumora, izloženost zračenju, pojavnost tumora nakon prethodnog liječenja ili promjena imunološkog statusa domaćina.[2–6] Pojavnost GBCC-a u 21. stoljeću je rijetka, ali je i moguća. Incidencija u prethodnim radovima kreće se oko 0,5% od svih BCC-a, što je podudarno i s našom studijom.[5] Anatomska razdioba ovog tumora je različita. Kod nekih autora GBCC se predominantno javlja na trupu i ekstremitetima, a u nekih u području glave i vrata, slično kao i konvencionalni BCC.[7,8] Zaccali i sur.[9] navode 22% GBCC-a lica od ukupno analiziranog 91 slučaja iz literature. S obzirom na to da je lice izrazito eksponirano područje i ne može se prekriti odjećom, ovaj udio i nije tako mali. Razlog je svakako

Tablica 1. Karakteristike tumora
Table 1. Tumour characteristics

Spol / Sex	Tumor / Tumour		Lokalizacija na licu / Localization on the face		Površina tumora / Tumour area		Prosječna površina / Average area cm²	Metastaza / Metastasis Da–Yes / Ne–No	Trajanje bolesti (god.) / Disease duration (year)
	Novi / De novo	Recidiv / Relapse	Sprijeda / Frontal	Postranično / Lateral	Sprijeda / Frontal cm²	Postranično / Lateral cm²			
M / M n=14	10	4	5	9	25,5	56,2	42,6	0/14	5,2
F / Ž n=10	8	2	4	6	21,8	53,1	45,3	1/9	6,9
Ukupno / Total n=24	18	6	9	15	24,3	54,6	43,7	1/23	5,9
P<0,05	Da / Yes		Ne / No		Da / Yes		Ne / No	—	—



Rekonstrukcija: K, kožni slobodni transplantat; L, lokalni režanj; R, regionalni režanj; Reconstruction: F, free skin graft; L, local skin flap; R, regional skin flap
Histološki tip: A, neagresivan; B, agresivan; C, nije određen; Histological type: A, non-aggressive; B, aggressive; C, not specified

Slika 4. Operacijske i poslijeoperacijske karakteristike zahvata i histološka analiza
Figure 4. Operative and postoperative characteristics of the procedure and histological analysis

ignorantski stav bolesnika prema kožnoj leziji. Uobičajeno je rano otkrivanje i najmanje kožne lezije na licu koja u pravilu potakne domaćina na korištenje medicinske pomoći. Kod naših bolesnika prosječno vrijeme prisutnosti bolesti iznosilo je dugih 5,9 godina. Iako razlozi mogu biti i višestruki, smatramo da je spori rast tumora, odsutnost bola i većeg ispada funkcije doprinijelo zanemarivanju bolesti. Bolesnici su se postupno navikli na promijenjeni izgled. To potkrjepljujemo i razlogom dolaska naših bolesnika na liječenje. Kod većine njih to je bilo krvarenje i neugodan miris kao posljedica nekroze i upale tumora, a ne svje-

sna želja za liječenjem. U manjem broju su hospitalizirani zbog akutnog pogoršanja zdravlja ili egzacerbacije kroničnih bolesti te su sekundarno tretirani radi ovog tipa tumora. Uglavnom su to starije osobe.[9,10] Prosječna dobna starost naših bolesnika bila je veća od 76 godina, što je više od dobi bolesnika u drugim radovima koji su obično u sedmom desetljeću života.[3,5,9] No, obolijevaju od ove bolesti i mlađe osobe. Tako Lackey i sur.[7] navode slučaj ovog tumora kod osobe stare samo 43 godine, a prosjek starosti grupe iznosio je 57 godina. Stopa incidencije GBCC-a po spolu nije izrazito različita. Dok primjerice Wollina i sur.[11] imaju značajno veći broj žena, Archontaki i sur.[8] naglašavaju prevlast muškaraca, slično kao i u našoj studiji. Obično su to siromašni ljudi koji žive u lošim higijenskim uvjetima s teško dostupnom zdravstvenom njegom.[12] Kod naših bolesnika također je bilo naglašeno siromaštvo, ali im je zdravstvena njega bila lako dostupna u većini slučajeva. Stoga smo mišljenja da je glavni razlog izbjegavanja liječenja fizička i psihička invalidnost bolesnika, udružena sa strahom od dijagnoze i liječenja. Nezainteresirana obitelj, prijatelji ili društveni radnici također snose dio odgovornosti za nastanak ovog tipa tumora. Kronični alkoholizam također se povezuje s razvojem GBCC-a.[13] U našoj grupi, udružen s depresijom, bio je prisutan u više od 80% bolesnika. Značajno manji udio alkoholizma zabilježili su Archontaki i sur.[8], svega 7,8% (4 bolesnika), što dalje ostavlja otvorenom raspravu o razlozima ignorantskog stava bolesnika prema ovoj bolesti. Kako navode Rossi i sur.[14] i Rendle[15], GBCC je u oko dvije trećine bolesnika povratni tumor, što također može biti razlogom zanemarivanja liječenja. Razočaranost bolesnika u raniji postupak i nevjera u povoljan ishod liječenja svakako su važni čimbenici koji mogu doprinijeti odgodi liječenja. Kod naših bolesnika nije bio takav slučaj, već sasvim suprotno. Tumori *de novo* su bili u većini, stoga negativno iskustvo nije bilo razlog izbjegavanja liječenja. Sličan rezultat navode Oudit i sur.[16]

U nastanku GBCC-a svakako sudjeluju agresivni histološki podtipovi BCC-a (mikronodularni, morfeoformni, bazoskvamozni).[3,9,16] U našem radu agresivnu formu, mikronodularnu i bazeoskvamoznu imalo je 6 bolesnika, svi s povratnim tumorom. Gotovo pola tumora bili su histološki neagresivni nodularnog podtipa, kao što navode Archontaki i sur.[8] Ovakav rezultat više implicira važnost histološkog podtipa za pojavu povrata bolesti kod konvencionalnog BCC-a, a ne za uzročnost GBCC-a.[1–4] Bez obzira na podtipove, svi GBCC-i imaju sposobnost invazije u susjedne slojeve kože i okolnog tkiva.[17] Narušavaju strukturni i funkcionalni integritet zahvaćenog područja. Ako je suditi po rezultatima Wetzel i sur.[18] koji su dobili značajno veću dubinu invazije agresivnih podtipova BCC-a od neagresivnih, možemo očekivati istovjetnu situaciju i kod GBCC-a, no dosada nije bilo takvih ispitivanja, niti smo mi to promatrali. Dubina invazije i agresivnost histoloških podtipova pogoduje razvoju metastaza kod BCC-a. Iznimno su rijetke, sa stopom incidencije 0,002% – 0,5%, i proporcionalne su s veličinom tumora.[19,20] Snow i sur.[21] navode da su 80% metastaza BCC-a od tumora kojima je promjer veći od 5 cm. Za njihovo nastajanje odgovorni su i drugi čimbenici: pojava lezije u području kože izloženom radioterapiji, imunosupresija, lokalni recidivi bolesti i njihovo dugo vrijeme evaluacije. Najčešće su to GBCC-i u području središnjeg lica i uške s prisutnom perivaskularnom i perineuralnom invazijom, histološki sklerozirajući, mikronodularni i bazoskvamozni tip karcinoma. Metastaze nastaju limfogenim i hematogenim širenjem bolesti te zahvaćaju najčešće regionalne limfne čvorove i pluća.[1,2,8,9,22] Prisutnost metastaza u dosadašnjim radovima je nekonzistentno zastupljena.[7–9] Bitno utječu na prognozu bolesti i rezultat liječenja. U našoj seriji bolesnika imali smo samo u jednom slučaju metastazu i to u području doušne žlijezde u neposrednoj blizini tumora. Klinički nije bila manifestna, nego je otkrivena tijekom histološke obrade uz dokazanu odsutnost direktne ekstenzije kožne lezije u područje intraparotidnog limfnog čvora. Radilo se o bazoskvamoznom podtipu BCC-a koji se odlikuje iznimno agresivnim biološkim ponašanjem, dubokom invazijom, infiltracijom tkiva i visokim postotkom recidiva nakon primarnoga kirurškog zahvata.[23,24] Zbog ove naravi bazoskvamoznog karcinoma Johnson i sur.[25] izdvajaju ga kao poseban entitet i nazivaju ga "vukom u ovčjoj koži". Ostali slučajevi su bili bez metastaza, iako su tumori bili značajne veličine i sijela u području središnjeg dijela lica koje se odlikuje tankom kožom i dobrom vaskularizacijom, što pogoduje razvoju metastaza.[22–24]

Najpovoljnije liječenje GBCC-a kao i svih BCC-a jest kirurška ekscizija sa slobodnim resekcijskim rubovima. Obično to uključuje 1 cm ruba normalnog tkiva oko tumora. Kirurško liječenje se pokazalo najbržim i najpraktičnijim. Njegov uspjeh je ovisan o veličini, lokalizaciji tumora, njegovoj resektabilnosti, vještini kirurškog tima i dakako o samoj dobi bolesnika. U većini slučajeva su to starije osobe s komorbiditetima, što ograničava vrijeme operacije, utječe na izbor operacijskih metoda i narušava zacjeljivanje rane.[26–30] Vođeni ovim uvjetima, a zbog što boljeg podnošenja zahvata kod naših bolesnika koristili smo većinom standardne tehnike rotacije i transpozicije lokalnih režnjeva. Slobodni kožni transplantat kao najjednostavniju metodu pokrivanja defekta koristili smo kod dvaju bolesnika. Opsežne destrukcije lica nadoknadili smo s jednim ili dva regionalna režnja. Odsutnost ozbiljnih komplikacija i upotreba sekundarnih zahvata potvrda nam je ispravnosti odluke o izboru metoda rekonstrukcije. Ni u jednog bolesnika nismo zabilježili pojavu rezidualnog tumora, kao ni povrat bolesti za vrijeme praćenja. Odsutnost kasnih komplikacija, atrofije, kontrakture ili kolapsa režnja dodatna su nam potvrda da se i

GBCC karcinom može uspješno liječiti u tako zahtjevnom području kao što je lice, bez obzira na starosnu dob bolesnika.

Zaključak

Ovdje smo prikazali grupu bolesnika s GBCC-om lica koje smo liječili radikalnom kirurškom ekscizijom tumora. Rekonstrukcija zaostalog defekta učinjena je u istom aktu, primjenom metoda prilagođenih komorbidnim bolestima i dobnoj starosti bolesnika. Ovakvim pristupom liječenja GBCC-a lica uspjeli smo odstraniti tumor kod svih bolesnika bez većih komplikacija, uz dobar funkcionalni i estetski rezultat. Zbog visokog rizika ponovne pojave bolesti i očuvanja postignutog rezultata potrebna je dobra onkološka kontrola. Pojavnost ovog tipa tumora može se dodatno smanjiti primjenom rane ekscizije i histološke kontrole BCC-a.

LITERATURA

1. *Rogers HW, Weinstock MA, Feldman SR, Coldiron BM.* Incidence Estimate of nonmelanoma skin cancer (Keratinocyte carcinoma) in the U.S. population 2012. JAMA Dermatol. 2015;151:1081–6. doi: 10.1001/jamadermatol.2015.1187
2. *Wu S, Cho E, Li WQ, Weinstock MA, Han J, Qureshi AA.* History of severe sunburn and risk of skin cancer among women and man in 2 prospective cohort studies. Am J Epidemiol. 2016;183:824–33. doi: 10.1093/aje/kwv282
3. *Purnell JC, Gardner JM, Brown JA, Shalin SC.* Conventional Versus Giant Basal Cell Carcinoma, a Review of 57 Cases: Histologic Differences Contributing to Excessive Growth. Indian J Dermatol. 2018;63:147–54. doi: 10.4103/ijd.IJD_165_17
4. *Randle HW.* Basal cell carcinoma. Identification and treatment of the high-risk patient. Dermatol Surg. 1996;22:255–61.
5. *Betti R, Inselvini E, Moneghini L, Crosti C.* Giant basal cell carcinomas: report of four cases and considerations. J Dermatol. 1997;24(5):317–21.
6. *Arslan H, Güzel MZ, Cnar C.* Treatment of giant basal cell carcinomas of the head and neck with aggressive resection and complex reconstruction. J Craniofac Surg. 2012;23:1634–7.
7. *Lackey PL, Sargent LA, Wong L, Brzezienski M, Kennedy JW.* Giant basal cell carcinoma surgical management and reconstructive challenges. Ann Plast Sur. 2007;58:250–4. doi: 10.1097/01.sap.0000250842.96272.37
8. *Archontaki M, Stavrianos SD, Korkolis DP, Arnogiannaki N, Vassiliadis V, Liapakis IE i sur.* Giant Basal cell carcinoma: clinicopathological analysis of 51 cases and review of the literature. Anticancer Res. 2009;29(7):2655–63.
9. *Zoccali G, Pajand R, Papa P, Orsini G, Lomartine N, Guliani M.* Giant basal cell carcinoma of the skin: literature review and personal experience. J Eur Acad Dermatol Venerol. 2012;26:942–52.
10. *Yazdani Abyaneh MA, Engel P, Slominski A, Ragsdale B, Agag R, Cramer D i sur.* Giant Basal Cell Carcinomas Express Neuroactive Mediators and Show a High Growth Rate: A Case-Control Study and Meta-Analysis of Etiopathogenic and Prognostic Factors. Am J Dermatopathol. 2017;39(3):189–94. doi: 10.1097/DAD.0000000000000640.
11. *Wollina U, Bayyoud Y, Krönert C, Nowak A.* Giant epithelial malignancies (Basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma): a series of 20 tumors from a single center. J Cutan Aesthet Surg. 2012;5:12–9. doi: 10.4103/0974-2077.94328
12. *Manstein CH, Gottlieb N, Manstein ME, Manstein G.* Giant basal cell carcinoma: a series of seven T3 tumors without metastasis. Plast Reconstr Surg. 2000;106:653–6. doi: 10.1097/00006534-200009030-00021
13. *Kokavec R, Fedeles J.* Giant basal cell carcinomas: a result of neglect? Acta Chir Plast. 2004;46:67–9.
14. *Rossi R, Campolmi P, Giomi B, Massi D, Cappugi P.* Gigant exophytic basal cell carcinoma treated with radiotherapy. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2002;16:374–6.
15. *Randle HW, Roenigk RK, Brodland DG.* Gigant basal cell carcinoma (T3). Who is at risk?. Cancer 1993;72:1624–30.
16. *Oudit D, Pham H, Grecu T, Hodgson C, Grant ME, Rashed AA i sur.* Reappraisal of giant basal cell carcinoma: Clinical features and outcomes. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2020;73(1):53–57. doi: 10.1016/j.bjps.2019.06.029
17. *Gualdi G, Monari P, Calzavara-Pinton P, Caravello S, Fantini F, Bornacina C i sur.* When basal cell carcinomas became giant: an Italian multicenter study. Int J Dermatol. 2020;59(3):377–82.
18. *Wetzel M, Strickley J, Haeberle MT, Brown TS.* Depth of invasion of aggressive and nonaggressive basal cell carcinoma. J Clin Aesthet Dermatol. 2019;12:12–4.
19. *Leibovitch I, Huilgol SC, Selve D, Hill D, Richards S, Paver R.* Basosquamous carcinoma: Treatment with Mohs micrograph surgery. Cancer. 2005;104:170–5.
20. *Piva de Freitas PP, Senna CG, Tabai M, Chone CT, Altemani A.* Metastatic Basal Cell Carcinoma: a rare manifestation of a common disease. Case Rep Med. 2017:8929745. doi: 10.1155/2017/8929745
21. *Snow SN, Sahl W, Lo JS, Mohs FE, Warner T, Dekkinga JA i sur.* Metastatic basal cell carcinoma. Report of five cases. Cancer. 1994;73(2):328–35.
22. *Ting PT, Kasper R, Arlette JP.* Metastatic basal cell carcinoma: report of two cases and literature review. J Cutan Med Surg. 2005;9:10–5.
23. *Lo JS, Snow SN, Reizner GT, Mohs FE, Larson PO, Hruza GJ.* Metastatic basal cell carcinoma: report of twelve cases with a review of the literature. J Am Acad Dermatol. 1991;24:715–9.
24. *Kurian RR, Di Palma S, Barrett AW.* Basal cell carcinoma metastatic to parotid gland. Head Neck Pathol. 2014;8:349–53. doi: 10.1007/s12105-013-0507-3
25. *Johnson BF, Moore PJ, Goepel JR, Slater DN.* Basosquamous carcinoma, a wolf in sheep's clothing? Report of 3 cases. Postgrad Med J. 1989;65(768):750–1.
26. *Garcia C, Poletti E, Crowson AN.* Basosquamous carcinoma. J Am Acad Dermatol. 2009;60:137–43.
27. *Tarallo M, Cigna E, Frati R, Delfino S, Innocenzi D, Fama U i sur.* Metatypical basal cell carcinoma: a clinical review. J Exp Clin Cancer Res. 2008;27(1):65. doi: 10.1186/1756-9966-27-65
28. *Mott SE, Hunter WJ, Silva, Huerter CJ.* Approach to management of giant basal cell carcinoma. Cutis. 2017;99:356–62.
29. *Rudić M, Kranjčec Z, Lisica-Šikić N, Kovačić M.* Giant Basal Cell Carcinoma of the Forehead: a case report. Coll Antropol. 2012;36:317–9.
30. *Maimaiti A, Mijiti A, Yarbag A, Moming A.* Giant basal cell carcinoma of the face: surgical management and challenges for reconstruction. J Laryngol Otol. 2016;130:176–82.

Liječ Vjesn 2022;144:79–86
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-3

Kliničko zapažanje | Clinical observation

Longitudinalni ekstenzivni transverzalni mijelitis u sistemskom eritemskom lupusu – prikaz bolesnice s pregledom literature

Longitudinal extensive transverse myelitis in systemic lupus erythematosus – a case report and review of literature

Marija Šćepović-Ljucović[1,2], Miroslav Mayer[1], Ivan Padjen[1]✉, Branimir Anić[1]

[1] Zavod za kliničku imunologiju i reumatologiju, Referentni centar za sustavni eritemski lupus Ministarstva zdravstva RH, Klinika za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta, Klinički bolnički centar Zagreb
[2] Klinika za nefrologiju, Klinički centar Crne Gore, Podgorica

Deskriptori
SISTEMSKI ERITEMSKI LUPUS – dijagnoza, farmakoterapija, komplikacije;
LONGITUDINALNI EKSTENZIVNI TRANZVERZALNI MIJELITIS – dijagnoza, etiologija, farmakoterapija;
NEUROPSIHIJATRIJSKI SISTEMSKI ERITEMSKI LUPUS – dijagnoza, etiologija, farmakoterapija;
IMUNOSUPRESIVI – terapijska uporaba;
TETRAPLEGIJA – etiologija;
RESPIRACIJSKA INSUFICIJENCIJA – etiologija;
ANTIFOSFOLIPIDNA PROTUTIJELA

SAŽETAK. Longitudinalni ekstenzivni transverzalni mijelitis (LETM) je iznimno rijetka, životno ugrožavajuća komplikacija sistemskog eritemskog lupusa (SLE). Riječ je o upalnoj leziji leđne moždine koja zahvaća najmanje tri susjedna vertebralna segmenta. Klinički se prezentira paraparezom ili tetraparezom, senzornim deficitom i vegetativnom disfunkcijom, a u teškim slučajevima uzrokuje respiratornu insuficijenciju. Prikazana je bolesnica u dobi od 28 godina koja se posljednjih 11 godina prati zbog SLE-a, a kod koje se bolest komplicirala razvojem LETM-a sa zahvaćanjem cervikalne i torakalne medule. LETM je nastupio nakon razdoblja stabilne remisije bolesti, a bio je praćen kliničkom, a prethodno i serološkom aktivacijom SLE-a. U sklopu LETM-a bolesnica je razvila tetraparezu i visoku hipesteziju, a zbog pareze respiratorne muskulature i posljedične respiratorne insuficijencije bila je potrebna mehanička ventilacija. Budući da obradom nije dokazana intratekalna infekcija, provedena je kombinirana imunosupresivna terapija kojom je postignut postupni i djelomični neurološki oporavak i poboljšanje neuroradiološkog nalaza. LETM je rijetka, ali ozbiljna komplikacija SLE-a, koja često ostavlja teške neurološke sekvele ili pak dovodi do letalnog ishoda. Uz prikaz bolesnice u pregledu literature navedena su dosadašnja saznanja o patogenezi, dijagnozi i terapijskom pristupu LETM-u u kontekstu neuropsihijatrijskog lupusa.

Descriptors
LUPUS ERYTHEMATOUS, SYSTEMIC – complications, diagnosis, drug therapy;
MYELITIS, TRANSVERSE – diagnosis, drug therapy, etiology; LUPUS VASCULITIS, CENTRAL NERVOUS SYSTEM – diagnosis, drug therapy, etiology;
IMMUNOSUPPRESSIVE AGENTS – therapeutic use;
QUADRIPLEGIA – etiology;
RESPIRATORY INSUFFICIENCY – etiology;
ANTIBODIES, ANTIPHOSPHOLIPID

SUMMARY. Longitudinal extensive transverse myelitis (LETM) is rather rare life threatening complication of systemic lupus erythematosus (SLE). It is defined as an inflammatory spinal cord lesion that extends over three or more adjacent vertebral segments. Clinical presentation can consist of paraparesis or tetraparesis, sensory disturbances and vegetative dysfunction, and respiratory failure may follow in severe cases. A female patient aged 28 years, diagnosed with SLE 11 years ago, has been herein presented, whose disease was complicated by LETM affecting cervical and thoracic spinal cord. LETM occurred after the period of stable remission, and was followed by clinical, as well as previously serologically active disease. In the context of LETM the patient developed tetraparesis and high hypoesthesia, while respiratory muscle paralysis and consecutive respiratory failure required mechanical ventilation. After the exclusion of underlying intracranial infection, combined immunosuppressive therapy has been used resulting in a gradual but partial neurological recovery, and an overall neuroradiological improvement. LETM is an uncommon but severe complication of SLE leading to serious neurological sequelae, and often resulting even in fatal otcome. Along with herein presented case report, current available findings on pathogenesis, diagnosis and therapheutic approach in the context of neuropsychiatric lupus have been depicted through the review of the literature.

Sistemski eritemski lupus je multisistemska, kronična, autoimunosna bolest koja može zahvatiti bilo koji organ, a najčešće su to koža, bubrezi, mišićno-koštani sustav te središnji živčani sustav (SŽS). S obzirom na navedeno, kliničke manifestacije su raznolike, a težina bolesti se kreće od blagih oblika (predominacija kožno-sluzničkih i mišićno-koštanih očitovanja) do najtežih očitovanja u koje se ubrajaju lupusni nefritis, zahvaćanje SŽS-a i teški oblici autoimunosne citopenije (prvenstveno hemolitičke anemije i trombocitopenije). Iako je etiologija bolesti nepoznata, pretpostavlja se da genetski i okolišni utjecaji doprinose gubitku tolerancije na vlastite antigene. Glavni rizični čimbenik

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Dr. sc. Ivan Padjen, dr. med., https://orcid.org/0000-0002-9249-9325
Zavod za kliničku imunologiju i reumatologiju, Klinika za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb,
e-pošta: ivan_padjen@yahoo.ca

Primljeno 27. rujna 2021., prihvaćeno 7. ožujka 2022.

Tablica 1. Sindromi uključeni u spektar NPSLE-a (Američko društvo za reumatologiju, 1999.)
Table 1. Neuropsychiatric syndromes observed in SLE (according to ACR, 1999)

Središnji živčani sustav / Central nervous system	Periferni živčani sustav / Peripheral nervous system
Aseptički meningitis / Aseptic meningitis	Polineuropatija / Polyneuropathy
Cerebrovaskularni inzult / Cerebrovascular disease	Poremećaj autonomnog živčanog sustava / Autonomic disorders
Demijelinizirajući sindrom / Demyelinating syndrome	Mononeuropatija – izolirana/multiplex / Mononeuropathy – single/multiplex
Glavobolja (uključivo s migrenom i benignom intrakranijskom hipertenzijom) / Headache (including migraine and benign intracranial hypertension)	Akutna demijelinizirajuća inflamatorna poliradikuloneuropatija (sindrom Guillain-Barre) / Acute inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy – Guillain-Barre syndrome
Korea / Chorea	Neuropatija kranijskih živaca / Cranial neuropathy
Mijelopatija / Myelopathy	Miastenija gravis / Myasthenia gravis
Konvulzivne epizode / Seizure disorders	Pleksopatija / Plexopathy
Akutno smeteno stanje / Acute confusional state	
Anksiozni poremećaj / Anxiety disorder	
Kognitivna disfunkcija / Cognitive dysfunction	
Poremećaj raspoloženja / Mood disorder	
Psihoza / Psychosis	

za razvoj SLE-a je spol, a bolest se najčešće javlja u žena generativne dobi.[1]

Neuropsihijatrijski simptomi mogu se manifestirati u otprilike polovine bolesnika koji boluju od SLE-a, a mogu varirati od blagih do opasnih po život. Patogenetski mehanizmi i dalje su u najvećoj mjeri nepoznati, neurotoksičnost se pripisuje protutijelima i citokinima, a nije zanemariva ni vaskulopatija posredovana antifosfolipidnim protutijelima (APLA, skraćenica od engl. *antiphospholipid antibodies*) i drugim mehanizmima.[2] Prema Američkom društvu za reumatologiju (ACR, skraćenica od engl. *American College of Rheumatology*) nomenklatura i definicije slučaja sindroma neuropsihijatrijskog sistemskog eritemskog lupusa (NPSLE) prikazani su u tablici 1.[3]

Lupusni mijelitis (LM) rijetka je prezentacija SLE-a. Ranije se smatralo da je najčešći oblik LM-a akutni transverzalni mijelitis (TM), međutim sa sve većom dostupnošću magnetske rezonancije (MR) u rutinskoj uporabi dokazano je da se LM u oko 60–75% slučajeva prezentira kao longitudinalni ekstenzivni transverzalni mijelitis (LETM).[4] Riječ je o upalnoj leziji leđne moždine koja zahvaća minimalno tri susjedna vertebralna segmenta na MR-u. Klinički se prezentira paraparezom ili tetraparezom, senzornim deficitom i vegetativnom disfunkcijom, a u teškim slučajevima uzrokuje slabost dišne muskulature i posljedičnu respiratornu insuficijenciju.[5] LETM se uglavnom povezuje s optičkim neuromijelitisom (NMO) ili bolestima iz NMO-spektra (engl. *NMO spectrum disorder, NMOSD*), međutim etiologija LETM-a je značajno šira. Diferencijalna dijagnoza obuhvaća autoimunosne (Sjögrenov sindrom, SLE, sarkoidoza) i upalne bolesti SŽS-a (multipla skleroza, akutni diseminirani encefalomijelitis – ADEM), infektivne uzročnike, metaboličke (deficijencija vitamina B12 – funikularna mijeloza, deficit bakra), neoplastičke (astrocitom, ependimom, metastatski tumori kralježnične moždine), vaskularne etiološke čimbenike (cerebrovaskularni inzult – CVI, duralne fistule), kao i traumu. Ponekad je posrijedi i paraneoplastički fenomen. U idiopatskom obliku LETM-a etiologija bolesti nakon ekstenzivne obrade ostane nedokazana.[6]

Liječenje LETM-a u sklopu SLE-a je kompleksno i obuhvaća u prvom redu kontrolu upale i simptomatske mjere te, iako uz određene dvojbe, antikoagulantnu i/ili antiagregacijsku terapiju. Potonje se odnosi na slučajeve u kojih je tromboembolija predmnijevani etiopatogenetski mehanizam.[7]

Prikaz bolesnice

Ovim radom prikazana je bolesnica sa SLE-om, rođena 1993. godine. Od 2010. godine u kontrolama je reumatologa – najprije pedijatrijskog, a potom adultnog. Tijek bolesti komplicirao se LETM-om sa zahvaćanjem cervikalne i torakalne medule. Većina navedenih podataka preuzeta je iz bolničke medicinske dokumentacije Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutrašnje bolesti KBC-a Zagreb, gdje je bolesnica liječena i praćena od 2014. godine, a medicinska dokumentacija koja se odnosila na prethodno liječenje većinom nije bila dostupna.

Inicijalne manifestacije bolesti u dobi od 17 godina bile su otekline malih zglobova šaka i koljena, zbog

kojih je uslijedila hospitalizacija u vanjskoj ustanovi te potom premještaj u našu instituciju gdje je postavljena i definitivna dijagnoza SLE-a u kolovozu 2010. godine. Treba napomenuti da se u ranijoj medicinskoj dokumentaciji uz dijagnozu SLE-a spominjala i dijagnoza sekundarnog antifosfolipidnog sindroma, što je značajno utjecalo na dijagnostički i terapijski proces. Prilikom postavljanja definitivne dijagnoze, uz povišene upalne parametre, verificirani su subnefrotska proteinurija, pancitopenija, poliklonska hipergamaglobulinemija, utrošak komplementa uz visoke titrove protutijela na dvostruku zavojnicu deoksiribonukleinske kiseline (dsDNA), histone te antigene SS-A i SS-B. Biopsijom bubrega dokazan je lupusni nefritis razreda III A/C prema klasifikaciji ISN/RPS (skraćeno od engl. *International Society of Nephrology* i *Renal Pathology Society*) iz 2003. godine. Osnovna bolest liječena je glukokortikoidima, mikofenolat mofetilom te antimalarikom (klorokinom), koji je nakon pet godina primjene isključen iz terapije zbog razvoja toksične makulopatije. Tijekom 2016. godine zbog izvrsnog odgovora na terapiju te kompletne remisije bolesti privremeno je obustavljena sva temeljna terapija. Do sredine 2017. godine bolesnica je bila klinički dobro uz monoterapiju metilprednizolonom u dozi od 8 mg, uz ipak prisutnu subkliničku serološku aktivnost bolesti (C3 0,76 g/l, C4 0,09 g/l, protutijela na dsDNA 576 IU/ml, na histone 228 AU/ml i na SS-A 352 AU/ml), a bez detektiranih APLA, iako se tijekom prethodnog liječenja i praćenja sporadično verificiralo odstupanje u smislu pozitivnog jednog od APLA, ali bez pridruženih kliničkih korelata za APS.

U kolovozu 2017. godine hospitalizirana je u vanjskoj ustanovi zbog pogoršanja osnovne bolesti uključujući febrilitet do 39°C, osip, poliartralgije uz progresivnu nemoć, otežan hod te bolove u abdomenu. Ultrazvučno je utvrđena retencija urina, a radiogram srca i pluća bio je neupadljiv. U laboratorijskim nalazima verificirana je bicitopenija (hemoglobin 100 g/l, leukociti 6,5x10^9/L, trombociti 92x10^9/L) uz prisutne pokazatelje reakcije akutne faze (C-reaktivni protein 55,6 mg/l, prokalcitonin 1,11 ng/ml, hipoproteinemija 56,2 g/l, uz serumske albumine 29,2 g/l). Imala je patološki nalaz sedimenta urina (5–10 eritrocita, 3–5 leukocita po vidnom polju) te kvalitativno prisutnu proteinuriju na test-traci urina. Idućih dana bolesnica razvija flakcidnu tetraparezu, visoku hipesteziju, poremećaj stanja svijesti uz respiratornu insuficijenciju. Navedeno je iziskivalo intubaciju i mehaničku ventilaciju. Kompjuterizirani tomogram mozga bio je uredan te je empirijski započeta terapija parenteralnim antibioticima širokog spektra, aciklovirom, parenteralnim glukokortikoidima u dozama oko 1 mg/kg tjelesne težine uz ostalu simptomatsku i suportivnu terapiju. MR mozga i leđne moždine pokazao je izraziti edem infratentorijalno od dna četvrte moždane komore, preko



Slika 1. Prikaz difuznog edema medule, najizraženijeg u području kraniocervikalnog prijelaza i vratnog segmenta na inicijalnoj MR snimci – snimka u trenutku dijagnoze LETM-a.
Figure 1. Diffuse spinal cord edema, the most visible in the area of craniocervical junction and the cervical segment, as it could be seen on the inicial MR – image at the moment of LETM diagnosis.



Slika 2. LETM je u trenutku dijagnoze zahvatio sve segmente kralježnične moždine.
Figure 2. LETM at the moment of diagnosis extended over all vertebral segments.

produžene moždine te kaudalno cijelom duljinom cervikalne medule, uz mrljaste zone hiperintenzivnog T2 signala vidljive sve do medularnog konusa (slika 1 i slika 2). Zbog sumnje na infektivnu etiologiju bolesnica je premještena u Kliniku za infektivne bolesti održane svijesti, tetraplegična i u anasarci. Obradom likvora nije dokazana infektivna etiologija upalnog zbivanja u SŽS-u. Lumbalnom punkcijom utvrđena je proteinorahija 6,54 g/l, pleocitoza 400 stanica/mm^3 (predominantno mononukleari), uz hematolikvorsku



Slika 3. MR nakon šest ciklusa ciklofosfamida pokazuje djelomičnu regresiju patoloških promjena u cervikalnoj meduli, kao i daljnju djelomičnu regresiju opsežne zone transverzalnog mijelitisa koji zahvaća segmente Th1 do Th10.

Figure 3. MR after six cyclophosphamide cycles reveals partial regression of pathological changes confined to cervical spinal cord, along with further partial regression of extensive area of transverse myelitis affecting first ten thoracic vertebral segments.

barijeru tipa 1. S obzirom na sumnju na LETM u kontekstu NPSLE-a eskalirana je imunosupresivna terapija – aplicirani su intravenski pulsevi metilprednizolona, provedena su dva postupka plazmafereze, nakon čega su aplicirane i dvije doze rituksimaba (500 mg po dozi, s razmakom od dva tjedna). Nadalje, apliciran je ciklofosfamid u dozi od 1000 mg parenteralno te intravenski imunoglobulini (IVIG) u imunomodulatornoj dozi od ukupno 100 g (raspoređeno tijekom nekoliko dana). U daljnjem tijeku uslijedio je oporavak osjeta u rukama i na trupu do visine mamila te parcijalni oporavak motorike (disanje, gutanje, ruke). Bolesnica je postupno odvojena od respiratora nakon mjesec dana i dekanulirana. U tijeku boravka akvirirala je nozokomijalnu pneumoniju (*Acinetobacter baumannii*) koja je izliječena. Nakon premještaja u našu ustanovu nastavljeno je liječenje i.v. ciklofosfamidom te primjenom IVIG-a, sada s obzirom na sekundarnu hipogamaglobulinemiju prvenstveno s ciljem supstitucije. U laboratorijskim nalazima u tom trenutku nije verificirana hipokomplementemija, nisu bila prisutna APLA niti protutijela na dsDNA. Treba napomenuti da su pretrage rađene nakon provedenih postupaka plazmafereze i opsežne imunosupresivne terapije. Nakon otpusta je provedena dugotrajna stacionarna fizikalna rehabilitacija, uz nastavak redovitih aplikacija ciklofosfamida putem dnevne bolnice – prvih nekoliko aplikacija u mjesečnim, a potom u tromjesečnim razmacima (u dozi od 500 mg) tijekom iduće dvije i pol godine sve do kumulativne doze od 7,75 g (modifikacija tzv. protokola NIH, skraćeno od engl. *National Institute of Health)*. Mjesečno je apliciran IVIG u dozi 30 g po primjeni (oko 400 mg/kg). Klinički tijek komplicirale su pojave opetovanih urinarnih infekcija, zbog kojih je povremeno i hospitalizirana. Nakon gotovo tri godine od početka neurološke bolesti odstranjen je urinarni kateter, što je proteklo uredno, bez retencije urina. Na kontrolnom MR-u iz travnja 2018. godine utvrđena je djelomična regresija patoloških promjena u cervikalnoj meduli te blaža daljnja regresija opsežne zone transverzalnog mijelitisa koji zahvaća segmente Th1 do Th10 (slika 3). Perzistirala je teška hipestezija od dermatoma Th1 prema distalno uz paraplegiju nogu i blažu parezu ruku. Bolesnica je bila visoko motivirana, redovito je vježbala u kućnim uvjetima, a u daljnjem tijeku suočila se s komplikacijama dugogodišnje nepokretnosti. MR-om je verificirana obostrana avaskularna nekroza kuka III. stupnja. Osnovna bolest je i dalje pokazivala blažu serološku aktivnost bez kliničkog korelata. Adekvatna kontrola bolesti postignuta je uz terapiju prednizonom u dozi od 5 do 10 mg. Unatoč dugotrajnoj glukokortikoidnoj terapiji, nije razvila GIOP (skraćeno od engl. *glucocorticoid induced osteoporosis*). Ostala potporna terapija obuhvaćala je kalcij 1 g i vitamin D3 400 IU, pantoprazol u dozi od 40 mg, acetilsalicilnu kiselinu 100 mg i duloksetin dva puta dnevno po 30 mg uz analgetik i anksiolitik po potrebi.

Rasprava i pregled literature

Neuropsihijatrijski SLE predstavlja vjerojatno najizazovnije očitovanje u sklopu SLE-a. NPSLE doprinosi značajno slabijoj kvaliteti života i uzrokuje deset puta veću stopu mortaliteta u usporedbi s općom populacijom.[8,9] Najveći izazov u kliničkoj procjeni jest utvrđivanje povezanosti neuropsihijatrijskih manifestacija i aktivnosti sistemskog lupusa. Kako je već navedeno, ACR prepoznaje 19 glavnih oblika NPSLE-a. Na SŽS se odnosi 12 od 19 definiranih oblika, uključujući psihijatrijske te fokalne i difuzne neurološke sindrome. Među njima najčešći su glavobolja, promjene raspoloženja i kognitivna disfunkcija, cerebrovaskularne komplikacije i konvulzije. Međutim, dokazano je da glavobolja nije češća u bolesnika sa SLE-om u odnosu na opću populaciju te da je depresija češće posljedica temeljne imunosupresivne terapije i bez korelacije s aktivnošću bolesti. S druge strane, generalizirane konvulzije, aseptički meningitis, ishemijski CVI, psihoza i mijelitis češće su povezani s aktivnim SLE-om. Promjene raspoloženja i kognitivna disfunkcija također nisu visokospecifični. Entitet koji nije naveden u nomenklaturi ACR-a, a sve češće se zamjećuje u bole-

snika sa SLE-om jest PRES (sindrom stražnje reverzibilne encefalopatije, od engl. *posterior reversible encephalopathy syndrome*) koji je karakteriziran naglim nastupom glavobolje, razvojem konvulzija, hipertenzijom i promjenom stanja svijesti.[2]

S obzirom na to da ne postoje specifični radiološki ili laboratorijski biomarkeri niti zlatni standard u dijagnostičkom pristupu, NPSLE ostaje dijagnoza *per exclusionem* i temelji se na mišljenju eksperta iz tog područja. Stoga je kod svih bolesnika nužno isključiti infekciju, preklapajuće bolesti, metaboličke poremećaje i nuspojave lijekova.[8]

Procijenjena zastupljenost LM-a prema dostupnim literaturnim podatcima jest oko 1–2% slučajeva u ukupnom broju bolesnika sa SLE-om.[10,11] Međutim, kada se isključe blaži nespecifični sindromi koji su ovisni o subjektivnoj procjeni ispitivača/kliničara (npr. blaža depresija i anksioznost) i sindromi od strane perifernoga živčanog sustava (PŽS), udio teških („*major*“) neuropsihijatrijskih događaja raste značajno u usporedbi s podatcima objavljenim do sada – tvrdnja se naročito odnosi na mijelopatiju čija bi prevalencija u tom slučaju iznosila čak 22%.[12]

LETM se najčešće javlja kao dio spektra NMO-a. Ponekad se ova manifestacija NPSLE-a javlja u sklopu aktivne bolesti, međutim LETM može figurirati i kao zasebni autoimunosni fenomen iz NMOSD-a koji koegzistira uz SLE i ovom je slučaju potrebno napraviti distinkciju. Otkriće protutijela NMO-IgG postalo je korisnim serološkim biljegom koji govori u prilog NMOSD-a.[13] Navedena distinkcija između LETM-a u kontekstu NMOSD-a i LETM-a u kontekstu NPSLE-a može imati implikacije u smislu pravilnog odabira terapijskog pristupa. Naime, lijekovi usmjereni protiv akvaporina 4 i čimbenika rasta vaskularnog endotela koji su primjenjivani u NMOSD-u nisu se pokazali korisnima u bolesnika s LETM-om u kontekstu NPSLE-a. Kako navode Tavor i sur. u recentnom radu, objavljenom početkom 2021. godine, češća je koegzistencija dviju bolesti nego pojava LETM-a u kontekstu aktivnog SLE-a (odnosno NPSLE-a).[14]

Prvi slučaj LM-a s longitudinalnom propagacijom opisali su 1999. godine Deodhar i sur. koji su entitet nazvali longitudinalnim transverzalnim mijelitisom.[15] LETM se može javiti kao inicijalna manifestacija[10,14,16,17], ali i kasnije tijekom bolesti, pa čak i kada je SLE u klinički mirnoj fazi[16, 18] kao što je bio slučaj kod prikazane bolesnice. Oko 50–60% manifestacija javlja se na početku bolesti ili unutar godinu dana od njezinog početka, a u 40–50% slučajeva u prisutnosti generalizirane aktivnosti bolesti.[19] LM se najčešće javlja tijekom prvih pet godina trajanja bolesti.[20] Stoga, s obzirom na to da nerijetko može biti prva manifestacija SLE-a, svaka prva epizoda mijelitisa, osobito kod mlađe ženske osobe, treba biti obrađena i u smjeru sistemske upalne reumatske bolesti.

Patofiziološki procesi odgovorni za nastanak lupusne mijelopatije nisu do kraja poznati, iako su najčešće spominjani mehanizmi tromboza i vaskulitis, koji pak mogu dovesti do ishemijske ozljede leđne moždine.[11,20,21] Kontradiktorni su podatci o ulozi APLA u patogenezi mijelitisa u SLE-u. Od ranije je poznato da su bolesnici koji boluju od SLE-a s APS-om skloniji fokalnim neurološkim manifestacijama kao što su moždani udar ili TM. Više autora koji su se bavili problemom lupusne mijelopatije navode visoku prevalenciju APLA u tih pacijenata.[17,20,22,23] S druge strane, prema rezultatima velike multicentrične studije *Euro-Phosholipid Project Group*, prevalencija TM-a u bolesnika s APS-om je niska – svega oko 0,4%.[24] Takav zaključak u suglasnosti je s radovima drugih autora.[25,26] Postoje indicije da tromboza spinalnih arterija posljedično vaskulopatiji koju pokreću APLA može biti patogenetski mehanizam mijelopatije u dijela bolesnika sa SLE-om. Mijelitisom je u većini slučajeva zahvaćena torakalna medula, gdje je zbog manjeg promjera krvnih žila relativno smanjena krvna opskrba, što je i dalo povoda za pretpostavke da ishemijski uzrok ima centralnu patogenetsku ulogu.

Međutim, u slučajevima ekstenzivne zahvaćenosti više spinalnih segmenata teže je objasniti kako je trombotski proces zahvatio više razina spinalnih krvnih žila.[21] Interakcija između APLA i staničnih struktura SŽS-a čini se izglednijim mehanizmom u podlozi ovih manifestacija, vjerojatno uz prekid kontinuiteta krvno-moždane barijere. U prilog tomu ide i činjenica da je direktni utjecaj APLA na tkiva SŽS-a i krvno-moždanu barijeru dokazan na animalnim modelima.[27] S druge strane, pregledna studija koja je objavljena 2011. godine i obuhvatila 70 bolesnika s LM-om koji su testirani na APLA pokazala je veću učestalost torakalne zahvaćenosti mijelitisom u APLA-negativnih pacijenata[28], a nije pokazala ni povezanost APLA u LM-u s nepovoljnijim kliničkim ishodom. Birnbaum i sur. opisali su 22 bolesnika s LM-om i došli do zaključka da su bolesnici s lošijim ishodom imali paralizu kao inicijalnu prezentaciju, a bili su i negativni na APLA[29], slično kao u slučaju prikazane bolesnice. Navedeni autori razdvojili su dva entiteta: mijelitis sive tvari i mijelitis bijele tvari, pri čemu je prvi entitet karakteriziran febrilitetom i urinarnom retencijom kao ekvivalentima prodroma ireverzibilne paraplegije, i javlja se u kontekstu aktivnog SLE-a. Mijelitis bijele tvari klinički se očituje hiperrefleksijom, spasticitetom i češćim relapsima. Također, češće je dio spektra NMOSD-a, a ima i bolju prognozu. Zamijećena je visoka učestalost protutijela na antigen Ro/SS-A u mijelitisu bijele tvari. Nađena je statistički značajna povezanost s lupusnim antikoagulansom (skr. LAC) kao i s trombotskim komplikacijama APS-a.

Prikaz prve mini-serije od šest bolesnika s ovom rijetkom manifestacijom SLE-a publicirao je Tellez-

-Zenteno sa suradnicima 2001. godine.[30] Četiri bolesnika imala su pozitivna antifosfolipidna protutijela, liječeni su glukokortikoidima parenteralno i ciklofosfamidom, a pojedini su dobivali antikoagulantnu ili antiagregacijsku terapiju. Ishod bolesti odnosno liječenja bio je uglavnom nepovoljan. Samo jedan bolesnik imao je održan (iako spor) neurološki oporavak, tri su imala relapse mijelopatije, a kod dvaju bolesnika nije bilo nikakvog učinka terapije. Veći broj bolesnika s LETM-om obradili su španjolski autori 2010. godine.[21] Pregledom literature izdvojili su 22 bolesnika sa SLE-om i zahvaćenošću više od četiri spinalna segmenta u razdoblju od 1966. do 2008. godine, pri čemu su se osvrnuli na imunološke, kliničke i radiološke značajke, kao i na ishod bolesti. Najčešća klinička prezentacija bila je disfunkcija sfinktera s ispadom senzibiliteta i varijabilnim stupnjem motoričkog deficita. U većini slučajeva, kod pacijenata je zabilježena serološka aktivnost bolesti (protutijela anti dsDNA u 65%, utrošak komplementa u 74%, a oboje u 60% slučajeva). I drugi autori zamijetili su da se LM češće javlja u aktivnom lupusu (otprilike u oko dvije trećine slučajeva).[4,29,30,31] Visoka serološka aktivnost bolesti prethodila je epizodi LETM-a i u slučaju prikazanom u ovom radu.

U literaturi je opisan i slučaj bolesnice koja je uz LETM istovremeno imala i cerebritis te cerebralni neutrofilni vaskulitis, kao i dobar odgovor na terapiju pulsnim dozama glukokortikoida, plazmaferezu, IVIG-e i ciklofosfamid.[32] Seyedali i sur. publicirali su prikaz bolesnice s LETM-om u SLE-u, koja je uz gore navedenu terapiju doživjela potpunu remisiju i u koje je uspješno nastavljena terapija održavanja mikofenolat mofetilom (MMF).[33]

Pristup liječenju NPSLE-a (a time i LETM-a) jest multimodalan. Diferentna terapija i dalje je mahom empirijska, zahvaljujući nedostatku randominiziranih kontroliranih studija. Prema preporukama radne skupine Europske lige protiv reumatizma (EULAR) iz 2010. godine potrebno je uključiti simptomatsku terapiju, korigirati pogoršavajuće čimbenike uz promptnu primjenu terapije usmjerene prema prirodi procesa koji je doveo do neurološkog incidenta (imunosupresija i/ili antikoagulacija/antiagregacija). U nekoliko sindroma NPSLE-a liječenje se započinje simptomatskom terapijom koja je često i dovoljna kod blažih manifestacija, ali ne i kod teških manifestacija kao što su konvulzije, psihoza i cerebritis/mijelitis. Simptomatska terapija uključuje primjerice antiepileptike u konvulzivnim epizodama, a antidepresive i anksiolitike u kontekstu anksioznog i/ili depresivnog sindroma. Imunosupresivna terapija je indicirana kada se pretpostavlja da je inflamatorni ili neurotoksični mehanizam predominantan (aseptički meningitis, optički neuritis, transverzalni mijelitis, refraktorne konvulzije, akutno smeteno stanje, periferne neuropatije, psihoza) ili u slučajevima jasne sistemske aktivnosti lupusa.[19] Visoke doze glukokortikoida i intravenski primijenjen ciklofosfamid ostaju okosnica liječenja bolesnika s ozbiljnim simptomima za koje se smatra da su odraz upale odnosno autoimunosnog procesa. Rituksimab, IVIG ili plazmafereza mogu biti korišteni kao dodatna (engl. *add on*) terapija ako odgovor na ciklofosfamid i glukokortikoide nije dostatan.[7] Gupta i sur. objavili su veliku desetogodišnju retrospektivnu studiju iz jednoga tercijarnog centra, kojom su pokazali učinkovitost MMF-a u kombinaciji s glukokortikoidima u liječenju NPSLE-a. U tom uzorku koji je obuhvatio 88 bolesnika (4,54% je imalo mijelopatiju), 97,1% bolesnika postiglo je kompletnu kliničku remisiju, uz povoljan sigurnosni profil, a zabilježen je jedan smrtni ishod koji bi se mogao pripisati nuspojavama liječenja.[34] Dok je mjesto antikoagulantne/antiagregacijske terapije i dalje kamen spoticanja u kliničkoj i znanstvenoj javnosti, praktički nema uniformnog stava o točnim indikacijama za primjenu ovog oblika terapije u NPSLE-u. Ona se i dalje preporučuje za NPSLE povezan s APLA, osobito ishemijski CVI. U slučaju LM-a sve je više autoriteta koji zagovaraju tezu da ne postoji dovoljno dokaza koji bi potvrdili povezanost APLA s mogućim trombotskim procesom koji je u pozadini NPSLE-a i koji bi samim time opravdao antikoagulantnu/antiagregacijsku terapiju.

S praktičnog stanovišta važno je istaknuti da korist primjene antiagregacijske terapije acetilsalicilnom kiselinom premašuje potencijalne rizike u bolesnika s teškim oblicima NPSLE-a, osobito u bolesnika s pozitivnim antifosfolipidnim protutijelima. Odluka o primjeni antikoagulantne terapije ovisi o težini i obliku manifestacije u sklopu spektra NPSLE-a.

Za široku stručnu medicinsku javnost potrebno je istaknuti da je u bolesnika s antifosfolipidnim sindromom (a vjerojatno i u bolesnika s visokim titrovima antifosfolipidnih protutijela bez formalno zadovoljenih kriterija za antifosfolipidni sindrom) primjena direktnih oralnih antikoagulansa kontraindicirana (tzv. DOAC) te su antikoagulansi izbora varfarin ili niskomolekularni heparin (potonje u slučaju da primjena varfarina iz bilo kojeg razloga nije izvediva ili pogodna).[35]

Zaključak

Neuropsihijatrijske manifestacije u pacijenata koji boluju od SLE-a i dalje su velik izazov za kliničare u smislu atribucije neuropsihijatrijskih simptoma/sindroma samom lupusu, a potom i pravovremenog i adekvatnog terapijskog pristupa. LETM je sve prepoznatljiviji entitet koji je u velikom postotku slučajeva odraz aktivne bolesti te čije posljedice mogu biti infaustne. Teški neurološki deficit kao inicijalna manifestacija NPSLE-a prediktor je nepovoljnijeg ishoda. Stoga je u slučaju teške neurološke prezentacije, kao

što je slučaj u LETM-u (ali i u češćim entitetima kao što su generalizirane konvulzije i psihoza), imunosupresivna terapija neophodna nakon što se isključi intratekalni infekt. Za buduća istraživanja ostaje otvoreno pitanje koja je točna uloga antifosfolipidnih protutijela u patogenezi NPSLE-a i ciljano LM-a te koja je njihova korelacija s težinom kliničke slike i konačnim ishodom. Navedeno može imati implikacije i na pitanje antiagregacijske i antikoagulantne terapije u pojedinim oblicima NPSLE-a, a osobito u slučaju LETM-a.

Skraćenice (navedene prema redoslijedu pojavljivanja u tekstu)

LETM – longitudinalni ekstenzivni transverzalni mijelitis
SLE – sistemski eritemski lupus
SŽS – središnji živčani sustav
APLA – antifosfolipidna protutijela
ACR – Američko društvo za reumatologiju
NPSLE – neuropsihijatrijski sistemski eritemski lupus
LM – lupusni mijelitis
TM – transverzalni mijelitis
MR – magnetna rezonancija
NMO – optički neuromijelitis
NMOSD – bolest iz spektra optičkog neuromijelitisa
ADEM – akutni diseminirani encefalomijelitis
CVI – cerebrovaskularni inzult
dsDNA – dvostruka zavojnica deoksiribonukleinske kiseline
ISN/RPS – Internacionalno društvo za nefrologiju / Društvo za renalnu patologiju
APS – antifosfolipidni sindrom
IVIG – intravenski imunoglobulini
NIH – Nacionalni institut za zdravlje
GIOP – glukokortikoidima izazvana osteoporoza
PRES – sindrom stražnje reverzibilne encefalopatije
PŽS – periferni živčani sustav
LAC – lupusni antikoagulans
MMF – mikofenolat mofetil
EULAR – Europska liga za borbu protiv reumatizma
DOAC – direktni oralni antikoagulans

LITERATURA

1. *Aranow C, Diamond B, Mackay M.* Systemic lupus erythematosus. U: Rich RR, ur. Clinical Immunology Principles and Practice. 4. izd. Amsterdam: Elsevier Saunders; 2013, str. 603–19.
2. *Kivity S, Agmon-Levin N, Zandman-Goddard G, Chapman J, Shoenfeld Y.* Neuropsychiatric lupus: a mosaic of clinical presentations. BMC Med. 2015;13:43.
3. *Liang MH, Corzillius M, Bae SC, Lew RA, Fortin PR, Gordon C i sur.* The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. Arthritis Rheum. 1999;42(4):599–608.
4. *JP Hryb, Chiganer E, Carnero Contentti E, Di Pace JL, Lessa C, Perassolo MB.* Myelitis in systemic lupus erythematosus: clinical features, immunological profile and magnetic resonance imaging of five cases. Spin Cord Seri Cas. 2016;2:160–5.
5. *Trebst C, Raab P, Voss EV, Rommer P, Abu-Mugheisib M, Zettl UK i sur.* Longitudinal transverse myelitis – it's not all neuromyelitis optica. Nat Rev Neurol. 2011;7(12):688–98.
6. *Carnero Contentti E, Hryb JP, Leguizamón F, Di Pace JL, Celso J, Knorre E i sur.* Differential diagnosis and prognosis for longitudinally extensive myelitis in Buenos Aires, Argentina. Neurologia. 2017;32:99–105.
7. *Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, Aringer M, Bajema I, Boletis JN i sur.* 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis. 2019;78:736–45.
8. *Magro-Checa C, Zirkzee EJ, Huizinga TW, Steup-Beekman GM.* Management of Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus: Current Approaches and Future Perspectives. Drugs. 2016;76:459–83.
9. *Padjen I, Cerovec M, Mayer M, Anić B.* Uzroci smrti u bolesnika sa SLE-om. Liječ Vjesn. 2017;139:61–6.
10. *Benmoh Y, Elbekal A, Hamid S, Ajamat M, Khalidi M, Hjira N i sur.* Longitudinally Extensive Transverse Myelitis Revealing Systemic Lupus Erythematosus: A Case Report and Literature Review. J Neurol Neurophysiol. 2018;9:4.
11. *Zhang S, Wang Z, Zhao J, Wu D I, Li J, Wang Q i sur.* Clinical features of transverse myelitis associated with systemic lupus erythematosus. Lupus. 2020;29:389–97.
12. *Kampylafka EI, Alexopoulos H, Kosmidis ML, Panagiotakos DB, Vlachoyiannopoulos PG, Dalakas MC i sur.* Incidence and prevalence of major central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus: a 3-year prospective study of 370 patients. Plos One. 2013;8(2):e55843.
13. *Nightingale H, Witherick J, Wilkins A.* Diagnosis of longitudinally extensive transverse myelitis. BMJ Case Reports. 2011; 10:1136.
14. *Tavor Y, Herskovitz M, Ronen G, Balbir-Gurman A.* Longitudinally Extensive Transverse Myelitis in a Lupus-Neuromyelitis Optica Overlap. Rambam Maimonides Med J. 2021;12 (1):e0006.
15. *Deodhar AA, Hochenedel T, Bennett RM.* Longitudinal involvement of the spinal cord in a patient with lupus related transverse myelitis. J Rheumatol. 1999;26:446–9.
16. *Zahid A S, Mubashir A, Mirza S A, Naqvi IH, Talib A.* Systemic Lupus Erythematosus Presenting as Longitudinally Extensive Transverse Myelitis and Nephritis: A Case Report. Cureus. 2018; 10(4):e2402.
17. *D'Cruz DP, Mellor-Pita S, Joven B, Sanna G, Allanson J, Taylor J i sur.* Transverse myelitis as the first manifestation of systemic lupus erythematosus or lupus like disease: good functional outcome and relevance of antiphospholipid antibodies. J Rheumatol. 2004;31:280–5.
18. *Talha M, Irsa M.* Abduraimova M, Ramirez MA, Paghdal S, McFarlane IM. Longitudinally Extensive Transverse Myelitis Associated With Systemic Lupus Erythematosus: A Case Report and Literature Review. Am J Med Case Rep. 2019;7 (10):244–9.

19. *Bertsias GK, Ioannidis JPA, Aringer M, Bollen E, Bombardieri S, Bruce IN i sur.* EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus with neuropsychiatric manifestations: report of a task force of the EULAR standing committee for clinical affairs. Ann Rheum Dis. 2010;69: 2074–82.
20. *Kovacs B.* Lafferty TL, Brent BH, DeHoratius RJ. Transverse myelopathy in systemic lupus erythematosus: an analysis of 14 cases and review of the literature. Ann Rheum Dis. 2000; 59:120–4.
21. *Espinosa G, Mendizabal A, Minguez S, Ramo-Tello C, Capellades J, Olive A i sur.* Transverse Myelitis Affecting More Than 4 Spinal Segments Associated with Systemic Lupus Erythematosus: Clinical, Immunological, and Radiological Characteristics of 22 Patients. Semin Arthritis Rheum. 2010;39 (4):246–56.
22. *Lavalle C, Pizarro S, Drenkard C, Sanchez-Guerrero J, Alarcon-Segovia D.* Transverse myelitis: a manifestation of systemic lupus erythematosus strongly associated with antiphospholipid antibodies. J Rheumatol. 1990;17:34–7.
23. *Smyth AE, Bruce IN, McMillan SA, Bell AL.* Transverse myelitis: a complication of systemic lupus erythematosus that is associated with the antiphospholipid syndrome. Ulster Med J. 1996;65:91–4.
24. *Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT i sur.* Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. Arthritis Rheum. 2002; 46:1019–27.
25. *Mok CC, Lau CS, Chan EY, Wong RW.* Acute transverse myelopathy in systemic lupus erythematosus: clinical presentation, treatment, and outcome. J Rheumatol. 1998;25:467–73.
26. *Lu X, Gu Y, Wang Y, Chen S, Ye S.* Prognostic factors of lupus myelopathy. Lupus. 2008;17:323–8.
27. *Muscal E, Brey RL.* Neurologic Manifestations: Integrating Molecular and Clinical Lessons. Curr Rheumatol Rep. 2008; 10:67–73.
28. *Katsiari CG, Giavri I, Mitsikostas DD, Yiannopoulou KG, Sfikakis PP.* Acute transverse myelitis and antiphospholipid antibodies in lupus. No evidence for anticoagulation. Eur J Neurol. 2011;18:556–63.
29. *Birnbaum J, Petri M, Thompson R, Izbudak I, Kerr D.* Distinct subtypes of myelitis in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 2009;60:3378–87.
30. *Tellez-Zenteno JF, Remes-Troche JM, Negrete-Pulido RO, Dávila-Maldonado L.* Longitudinal myelitis associated with systemic lupus erythematosus: Clinical features and magnetic resonance imaging of six cases. Lupus. 2001;10(12):851–6.
31. *Li XY, Xiao P, Xiao HB, Zhang LJ, Pai P, Chu P i sur.* Myelitis in systemic lupus erythematosus frequently manifests as longitudinal and sometimes occurs at low disease activity. Lupus. 2014;23(11):1178–86.
32. *Modjinou D, Gurin L, Chhabra A, Mikolaenko I, Lydon E, SmilesBull S.* A case of systemic lupus erythematosus associated with longitudinal extensive transverse myelitis, cerebral neutrophilic vasculitis, and cerebritis. Bull Hosp Jt Dis. 2014; 72(4):294–300.
33. *Seyedali S, Alpert DR.* Longitudinal extensive transverse myelitis: a rare neurological complication of systemic lupus erythematosus. BMJ Case Rep. 2019;12(4):e228950.
34. *Gupta N, Ganpati A, Mandal S, Mathew J, Goel R, Mathew AJ i sur.* Mycophenolate mofetil and deflazacort combination in neuropsychiatric lupus: a decade of experience from a tertiary care teaching hospital in southern India. Clin Rheumatol. 2017;36:2273–9.
35. *Pengo V, Denas G, Zoppellaro G, Padayattil Jose S, Hoxha A, Ruffatti A i sur.* Rivaroxaban vs. warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome. Blood. 2018;132:1365–71.

Liječ Vjesn 2022;144:87–89
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-4

Kliničko zapažanje | Clinical observation

Transplantacija bubrega u starijeg bolesnika organom vrlo starog darovatelja

Kidney transplantation in elderly recipient with organ from a very old donor

Mislav Mokos[1], Željko Kaštelan[1,2], Marijana Ćorić[1,3], Nikolina Bašić-Jukić[1,4]

[1] Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
[2] Klinika za urologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb
[3] Klinički zavod za patologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb
[4] Zavod za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju Klinike za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb

Deskriptori
TRANSPLANTACIJA BUBREGA – metode;
OSOBE STARIJE OD 80 GODINA;
ODABIR DAROVATELJA – metode, tendencija;
PRIMATELJI TRANSPLANTATA;
PREŽIVLJENJE PRESATKA; KREATININ – u krvi;
ISHOD LIJEČENJA

SAŽETAK. Transplantacija bubrega značajno poboljšava kvalitetu, ali i očekivano trajanje života bolesnika. Veliki nesrazmjer između broja dostupnih i potrebnih organa produljuje vrijeme čekanja na transplantaciju. Visoka smrtnost u populaciji bolesnika na hemodijalizi uz prihvatljive ishode transplantacije bubrega od darovatelja po proširenim kriterijima rezultirali su sve češćim transplantacijama organa od starijih darovatelja. Prikazujemo slučaj transplantacije bubrega 83-godišnjeg darovatelja primatelju starom 72 godine. Odgovarajuća priprema darovatelja nakon moždane smrti u jedinici intenzivnog liječenja, preimplantacijska biopsija i kratko vrijeme hladne ishemije bili su ključ za procjenu prihvaćanja organa za transplantaciju i rezultirali su primarnom funkcijom presatka. Primatelj starije životne dobi bez značajnijih pridruženih bolesti, kratko liječenje dijalizom uz odgovarajuće postoperativno praćenje bolesnika i imunosupresivne terapije rezultirali su brzim oporavkom bolesnika bez intraoperativnih i ranih postoperativnih komplikacija te kratkim trajanjem hospitalizacije.

Descriptors
KIDNEY TRANSPLANTATION – methods;
AGED, 80 AND OVER;
DONOR SELECTION – methods, trends;
TRANSPLANT RECIPIENTS; GRAFT SURVIVAL;
CREATININE – blood; TREATMENT OUTCOME

SUMMARY. Kidney transplantation ensures not only the improvement of the patient's quality of life but also extends life expectancy. A significant disproportion between the numbers of available and needed organs for transplantation has led to prolonged wait time for a kidney transplant. Since mortality rates for hemodialysis patients are manifold higher when compared to general population of the same age, organs from older donors are increasingly being accepted. We report the case of kidney transplantation in a 72-year-old recipient who received kidney from an 83-year-old deceased donor. Proper care of deceased donor in the intensive care unit, preimplantation biopsy and short cold ischemia time were crucial for organ acceptance and resulted in immediate graft function. Adequately prepared older recipient, with short period on hemodialysis, appropriate postoperative monitoring and immunosuppressive therapy resulted in quick recovery of the patient, without intraoperative or early postoperative complications, and a short inpatient stay.

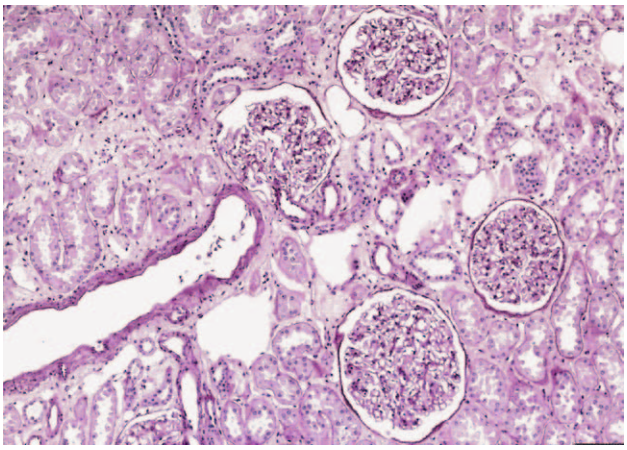
Transplantacija bubrega najbolji je način nadomještanja bubrežne funkcije u bolesnika sa završnim stadijem kronične bubrežne bolesti, koji osim značajno bolje kvalitete života bolesnicima produljuje i trajanje života u odnosu na očekivano trajanje života na dijalizi.[1] Veliki nesrazmjer između broja dostupnih organa za transplantaciju i broja bolesnika na listi čekanja za transplantaciju bubrega za posljedicu ima višegodišnje čekanje na organ s moždano mrtvog darovatelja.[2] U isto vrijeme, hemodijaliza je povezana sa smrtnosti koja je deset puta veća nego u dobno istovjetnoj općoj populaciji, dostižući i do 20% godišnje.[3] U ovim okolnostima, transplantacija organom moždano mrtvog darovatelja po proširenim kriterijima posljednjih godina sve je češća. Sve više se prihvaćaju organi odabranih starijih darovatelja bez dobne granice u sklopu *Eurotransplant senior programa* (ESP) koji organe starijih darovatelja raspodjeljuje primateljima starijim od 65 godina. Raniji su radovi pokazali nešto lošije stope preživljavanja za bubrege davatelja starih ≥65 godina ako su transplantirani u okviru ESP-a u usporedbi s redovitim programom transplantacije kada su stariji primatelji dobili bubreg od darovatelja mlađih od 65 godina.[4] Nekoliko novijih studija je pokazalo da je uz preimplantacijsku biopsiju organa starijih od 70 godina stopa preživljenja ovih organa jednaka stopi preživljenja organa mlađih darovatelja.[5–6] Ovdje prikazujemo slučaj transplantacije bubrega u starijeg primatelja organom vrlo starog moždano mrtvog darovatelja.

Prikaz bolesnika

Muškarac u dobi od 72 godine, nepoznate osnovne bubrežne bolesti, s 39 godina imao je pijelonefritis na

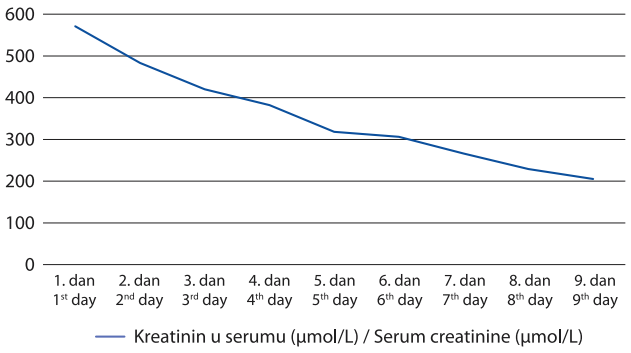
✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prof. dr. sc. Nikolina Bašić-Jukić, https://orcid.org/0000-0002-0221-2758
Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb,
e-pošta: nbasic@kbc-zagreb.hr

Primljeno 8. listopada 2021., prihvaćeno 25. listopada 2021.



Slika 1. Periodic-acid Schiff (PAS) bojenje uzorka dobivenog biopsijom bubrega potencijalne darovateljice. Vide se glomeruli s proširenim mezangijem te pojedinačne nekrotične epitelne stanice u tubulima što ukazuje na žarišno blago akutno tubularno oštećenje. PAS, ×10

Figure 1. Periodic-acid Schiff (PAS) stain of kidney biopsy specimen of the potential donor. There are glomeruli with widened mesangium and tubules with several necrotic epithelial cells, indicating mild focal acute tubular damage. PAS, ×10



Slika 2. Grafički prikaz vrijednosti serumskog kreatinina nakon transplantacije bubrega

Figure 2. Diagram showing serum creatinine levels after kidney transplantion

podlozi nefrolitijaze, a od tada je liječen i zbog arterijske hipertenzije i gihta. U lipnju 2017. godine laparoskopski mu je postavljen kateter za peritonejsku dijalizu (PD). Zbog infektivnih i mehaničkih komplikacija PD kateter je izvađen te mu je u rujnu 2018. godine konstruirana arteriovenska fistula distalno na lijevoj podlaktici. U siječnju 2019. liječen je ambulantno zbog bronhopneumonije. U travnju 2019. godine hospitaliziran je u stanju uremije i epistakse uz krvni tlak 170/80 mm Hg, te je tada započeto nadomještanje bubrežne funkcije hemodijalizom. Dana 12. veljače 2020. pozvan je na transplantaciju kao potencijalni primatelj kadaveričnog bubrega. HLA nepodudarnost (engl. *miss match*, MM) iznosila je 2,1,1. Rezultat križne probe bio je negativan.

Moždano mrtvi darovatelj bubrega bio je star 83 godine, ženskog spola, uredne vrijednosti kreatinina, s anamnezom arterijske hipertenzije, a uzrok smrti bila je ishemija mozga. Vrijeme boravka u jedinici intenzivnog liječenja bilo je kratko (3 dana), bez hipotenzivnih epizoda, a primala je norepinefrin 0,3 µg/ml/kg/min. Ultrazvučnim pregledom bubrezi su bili uredne morfologije. Uvidom u nalaze darovatelja, a uz informirani pristanak potencijalnog primatelja, transplantacijski tim je odlučio prihvatiti ponudu bubrega uz uvjet prihvatljivog nalaza preimplantacijske biopsije. Preimplantacijskom biopsijom dobivena je kora bubrega s 28 glomerula po prerezu, 2 globalno sklerozirana (Remuzzi 1), bez značajnije fibroze intersticija (Remuzzi 0), bez značajnije atrofije kanalića (Remuzzi 0), urednih arteriola (Remuzzi 0), žarišno uz blago akutno tubularno oštećenje (slika 1). Konačni Remuzzi score: 1 (1+0+0+0).

Po prispijeću nalaza patohistološke analize bubreg je prihvaćen. Učinjena je transplantacija bubrega uz hladnu ishemiju presatka od 6 sati, toplu ishemiju 12 minuta i prisutnu inicijalnu funkciju presađenog bubrega.

Imunosupresijska terapija je uključivala indukciju baziliksimabom, takrolimus, mikofenolat natrij i prednison.

Diureza je prvoga posttransplantacijskog dana iznosila 5100 ml, a dalje 1650–3350 ml dnevno do otpusta devetoga posttransplantacijskog dana. Vrijednost kreatinina je prvoga posttransplantacijskog dana iznosila 571 µmol/L, a na dan otpusta 205 µmol/L (slika 2). Na ambulantnom kontrolnom pregledu tri tjedna nakon transplantacije dolazi do daljnjeg pada kreatinina na 176 µmol/L uz klirens kreatinina 52 ml/min i urednu glikemiju.

Rasprava

Prikazali smo slučaj 72-godišnjeg bolesnika s primarnom funkcijom bubrežnog presatka u koji je dobio organ od moždano-mrtvog darovatelja starijeg od 80 godina. Primarna funkcija presatka rezultirala je promptnom depuracijom dušičnih tvari iz organizma, dobrom regulacijom elektrolita i kontrolom arterijske hipertenzije, bez induciranih poremećaja glikemije. U bolesnika nije bilo komplikacija kako intraoperativno tako niti u ranom postoperativnom tijeku, što je rezultiralo brzim oporavkom i kratkim trajanjem hospitalizacije. Sve to govori u prilog visokoga funkcionalnog kapaciteta bubrega vrlo starog darovatelja kratko nakon transplantacije.

Udio darovatelja organa po proširenim kriterijima u zadnjih desetak godina u značajnom je porastu, te u proteklih nekoliko godina iznosi gotovo 50% od svih moždano-mrtvih darovatelja.[7] Iskustva s organima

darovatelja starijih od 70 godina ograničena su i djelomično kontradiktorna, a rastuća životna dob darovatelja prepoznata je kao jedan od najvažnijih čimbenika za loše preživljenje presatka.[8] Međutim, Echterdiek i sur. su nedavno pokazali da je preživljenje organa darovatelja starijih od 70 godina poboljšano i da se kreće u postotcima preživljenja organa darovatelja u dobi od 60–69 godina.[9] Naš slučaj pokazuje da su dobra priprema darovatelja u jedinici intenzivnog liječenja uz preimplantacijsku biopsiju i kratko vrijeme hladne ishemije ključ za procjenu prihvaćanja organa za transplantaciju i primarnu funkciju organa vrlo starih darovatelja.

Poznato je da je broj HLA nepodudarnosti povezan s lošijim dugoročnim preživljenjem presatka; međutim, broj transplantacija s pet ili šest nepodudarnosti u zadnje vrijeme raste s 12,5% na 20,2%.[10] Naš bolesnik je imao četiri nepodudarnosti, od toga jednu na DR-lokusu, a kako će se to dugoročno odraziti u preživljenju bubrega i bolesnika ovisi i o razini imunosupresije, stvaranju donor-specifičnih protutijela, učinkovitoj antivirusnoj profilaksi te učinkovitoj dijagnostici i liječenju popratnih čimbenika rizika za razvoj srčanožilnih bolesti. Pažljivo praćenje bolesnika nakon transplantacije može značajno poboljšati ishode liječenja.

Dobrom rezultatu može doprinijeti i veliko iskustvo transplantacijskog centra s više od 2.500 učinjenih postupaka transplantacije. Naime, veliki centri su skloni preuzeti veći rizik od malih transplantacijskih centara s obzirom na veće iskustvo članova transplantacijskog tima, brže prepoznavanje problema i njihovo rješavanje.

Zaključak

Naše iskustvo pokazuje da je transplantacija bubrega organom vrlo starog darovatelja u dobro odabranog primatelja starije životne dobi siguran postupak nadomještanja bubrežne funkcije koji osim značajno bolje kvalitete života pruža i značajno bolju šansu za dulje preživljenje bolesnika u odnosu na boravak na dijalizi.

LITERATURA

1. *Heldal K, Hartmann A, Grootendorst DC, de Jager DJ, Leivestad T, Foss A i sur.* Benefit of kidney transplantation beyond 70 years of age. Nephrol Dial Transplant. 2010;25(5):1680–7.
2. *Wu DA, Watson CJ, Bradley JA, Johnson RJ, Forsythe JL, Oniscu GC.* Global trends and challenges in deceased donor kidney allocation. Kidney Int 2017;91:1287–99.
3. Annual Report 2018/Eurotransplant International Foundation [Internet]. Eurotransplant Foundation. Dostupno na: https://www.eurotransplant.org/wp-content/uploads/2019/12/032675-_ET_Jaarverslag_2018_v7-1.pdf. Pristupljeno 05. 03. 2020.
4. *Frei U, Noeldeke J, Machold-Fabrizii V, Arbogast H, Margreiter R, Fricke L i sur.* Prospective age-matching in elderly kidney transplant recipients–a 5-year analysis of the Eurotransplant Senior Program. Am J Transplant. 2008;8(1):50–7.
5. *Mallon DH, Riddiough GE, Summers DM, Butler AJ, Callaghan CJ, Bradbury LL I sur.* Successful transplantation of kidneys from elderly circulatory death donors by using microscopic and macroscopic characteristics to guide single or dual implantation. Am J Transplant. 2015;15(11):2931–9.
6. *Ruggenenti P, Silvestre C, Boschiero L, Rota G, Furian L, Perna A i sur.* Long-term outcome of renal transplantation from octogenarian donors: A multicenter controlled study. Am J Transplant. 2017;17(12):3159–71.
7. *Coemans M, Süsal C, Döhler B, Anglicheau D, Giral M, Bestard O i sur.* Analyses of the short- and long-term graft survival after kidney transplantation in Europe between 1986 and 2015. Kidney Int. 2018;94(5):964–73.
8. *Dayoub JC, Cortese F, Anžič A, Grum T, deMagalhães JP.* The effects of donor age on organ transplants: a review and implications for aging research. Exp Gerontol. 2018;110:230–40.
9. *Echterdiek F, Schwenger V, Döhler B, Latus J, Kitterer D, Heemann U i sur.* Kidneys from elderly deceased donors – Is 70 the New 60? Front Immunol [Internet]. 2019;10:3142. Dostupno na: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02701/full. Pristupljeno: 1. 3. 2020.
10. *Williams RC, Opelz G, McGarvey CJ, Weil EJ, Chakkera HA.* The risk of transplant failure with HLA mismatch in first adult kidney allografts from deceased donors. Transplantation 2016;100:1094–102.

Liječ Vjesn 2022;144:90–95
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-5

Lijekovi i metode | Drugs and procedures

Primjena ultrabrze videoendoskopije u laringektomiranih bolesnika – pregled literature

Application of high-speed videoendoscopy in laryngectomy patients – a review of the literature

Željka Laksar Klarić[1,2]✉, Ana Đanić Hadžibegović[3,4,5,6], Andrijana Včeva[1,2], Tamara Živković Ivanović[3], Darija Birtić[1,2], Ratko Prstačić[3,5,6], Željko Zubčić[1,2]

[1] Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku
[2] Klinika za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata, Klinički bolnički centar Osijek
[3] Klinika za bolesti uha, nosa i grla i kirurgiju glave i vrata, Klinički bolnički centar Zagreb
[4] Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek
[5] Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
[6] Edukacijsko-rehabilitacijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

Deskriptori
LARINGEKTOMIJA; ALARINGEALNI GOVOR; EZOFAGEALNI GOVOR; FONACIJA; VIBRACIJA; LARINGOSKOPIJA; STROBOSKOPIJA; VIDEOZAPIS; GLASNICE – slikovna dijagnostika

SAŽETAK. Totalna laringektomija je kirurško odstranjenje cijelog larinksa i indicirana je u bolesnika s uznapredovalim karcinomima larinksa. Metode rehabilitacije glasa nakon totalne laringektomije jesu korištenje elektrolarinksa kao izvora glasa te usvajanje ezofagealnog ili traheoezofagealnog govora pomoću govorne proteze, pri čemu sluznica faringoezofagealnog segmenta služi kao generator glasa. Akustička analiza alaringealnog glasa danas predstavlja zlatni standard u procjeni kvalitete glasa laringektomiranih bolesnika. Nažalost, standardnim dijagnostičkim postupkom videostroboskopijom koja se koristi u vizualnoj analizi sluzničkog vala na glasnicama nije moguće prikazati i analizirati vibracije faringoezofagealnog segmenta laringektomiranih bolesnika pri fonaciji. Stoga je tek kliničkom upotrebom ultrabrze videoendoskopije omogućeno proučavanje morfologije sluznice faringoezofagealnog segmenta. Pregledom dosadašnje literature dali smo detaljan uvid u primjenu ultrabrze videoendoskopije u analizi fonatornog gibanja sluznice faringoezofagealnog segmenta u laringektomiranih bolesnika.

Descriptors
LARYNGECTOMY; SPEECH, ALARYNGEAL; SPEECH, ESOPHAGEAL; PHONATION; VIBRATION; LARYNGOSCOPY; STROBOSCOPY; VIDEO RECORDING; VOCAL CORDS – diagnostic imaging

SUMMARY. Total laryngectomy is surgical removal of the entire larynx and is performed in cases of advanced larynx cancer. There are three methods of restoring voice after total laryngectomy: electrolaryngeal voice, esophageal voice, or tracheoesophageal voice with voice prosthesis where mucosa of pharyngoesophageal segment is the source of voice production. The acoustic analysis of alaryngeal voice is gold standard in assessing the voice quality in patients after total laryngectomy. Unfortunately, by using videostroboscopy, standard diagnostic procedure for visual analysis of vocal mucosa vibratory behavior, it is not possible to visualize and measure vibrations of pharyngoesophageal segment. High-speed videoendoscopy has proven to be the optimal method for visual recording of vibratory movement of the mucosa of pharyngoesophageal segment. By reviewing the current literature we provided a detailed insight into application of high-speed videoendoscopy in the analysis of phonatory behavior of pharyngoesophageal segment in laryngectomized patients.

Totalna laringektomija je kirurški zahvat kojim se uklanja cijeli grkljan, indiciran u bolesnika s uznapredovalim karcinomom larinksa. Prvu totalnu laringektomiju učinio je T. Billroth 1873. godine.[1] Radi se o opsežnom zahvatu koji na bolesnika ostavlja trajne posljedice. Pri operaciji odstranjuje se tumorom zahvaćeni grkljan te se trajno odvaja donji dišni put od probavnog, a disanje se odvija putem trajno formirane traheostome.

Tri su metode rehabilitacije glasa nakon totalne laringektomije: 1. ezofagealni glas, 2. traheoezofagealni glas i 3. govor uz pomoć mehaničkih, digitalnih pomagala – elektrolarinks. Elektrolarinks je govorni aparat koji zahvaljujući električnoj bateriji stvara vanjski izvor vibracija. Prislanjanjem govornog uređaja na kožu vrata vibracije prenosimo u usnu šupljinu gdje artikulacijom nastaje glas i govor. Glas koji nastaje upotrebom ove vrste aparata dobre je razumljivosti, ali monoton s „robotskim“ prizvukom.[2] Ezofagealni glas je najstarija i najprirodnija metoda rehabilitacije laringektomirane osobe, a nastaje kada bolesnik posebno naučenom tehnikom s jednim od tri osnovna načina: gutanjem, injekcijom ili aspiracijom ubaci zrak u gornji dio jednjaka. Zrak se voljnom eruktacijom (podri-

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Željka Laksar Klarić, dr. med., https://orcid.org/0000-0002-5649-0649
Klinika za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata, KBC Osijek,
J. Huttlera 4, 31000 Osijek; e-pošta: zeljka.l.klaric@gmail.com

Primljeno 25. veljače 2021., prihvaćeno 17. svibnja 2021.



Slika 1. Snimanje laringektomiranog bolesnika krutim endoskopom spojenim na ultrabrzu laringealnu kameru
Figure 1. Recording of a laryngectomy patient with rigid endoscope being attached to laryngeal high-speed camera

givanjem) vraća prema ždrijelu gdje nastaju vibracije u faringoezofagealnom segmentu koje stvaraju zvuk koji se u usnoj šupljini artikulira u glas. Osnovna frekvencija takvog glasa je niska, a govor je isprekidan i kratkotrajan, zbog malog spremnika zraka u jednjaku, i uvelike ovisi o uvježbanosti bolesnika.[3] Usvajanje traheoezofagealnoga glasa danas predstavlja zlatni standard u rehabilitaciji glasa laringektomiranih bolesnika, a postupak formiranja traheoezofagealne fistule i postavljanje govorne proteze u literaturi su prvi put početkom 1980-ih opisali Singer i Bloom.[4] Govor nastaje prolaskom zraka iz pluća kroz traheoezofagealnu fistulu u koju je postavljena govorna proteza. Tako potisnuti zrak uzrokuje vibraciju sluznice faringoezofagealnog segmenta. Govorna proteza služi kao zalistak koji omogućuje jednosmjerni protok zraka prema jednjaku, a ne dozvoljava prolazak sadržaja iz jednjaka u dušnik i bronhe.[5] Tijekom godina različiti proizvođači stvaraju govorne proteze koje se razlikuju po veličini, duljini i materijalima od kojih su napravljene.

Glas nastao na razini faringoezofagealnog segmenta i dalje se ne može uspoređivati s glasom na nivou glasnica, a vizualna instrumentalna procjena je otežana. Dostupnim instrumentalnim metodama za procjenu vibracija sluznice glasnica, videostroboskopijom, videokimografijom i elektroglotografijom teško se mogu prikazati vibracije sluznice faringoezofagealnog segmenta tijekom fonacije.[6] Na vibracije sluznice faringeoezofagealnog segmenta kao i na kvalitetu glasa i razumljivost govora utječu smještaj, oblik i veličina faringoezofagealnog segmenta, kao i duljina, širina ždrijela, kapacitet pluća i drugi komorbiditeti pojedinca.[7] Stoga je tek kliničkom upotrebom ultrabrze videoendoskopije omogućeno proučavanje morfologije sluznice faringoezofagealnog segmenta (slika 1).

Pregledom dosadašnje literature dali smo uvid u primjenu ultrabrze videoendoskopije u analizi vibracija faringoezofagealnog segmenta u laringektomiranih bolesnika pri fonaciji te istaknuli ograničenja i nedostatke drugih vizualnih metoda analize vibracija faringoezofagealnog segmenta.

Ultrabrza videoendoskopija

Tijekom godina u literaturi se razvijala različita terminologija koja se koristi za opisivanje endoskopske vizualizacije vibracije fonacijskog aparata pomoću tehnike ultrabrze laringealne videoendoskopije, što je opisao u kratkom pismu Deliyski 2015. godine. Početno su se koristili termini poput „*High-speed motion picture*“ 1940-ih godina, do najkorištenijih termina poput „*High-speed laryngoscopy*“ i „*High-speed laryngeal imaging*“. U zaključku se preporučuje korištenje termina „*Laryngeal High-Speed Videoendoscopy*“ – ultrabrza laringealna videoendoskopija, jer se postiže ravnoteža između specifičnosti i konciznosti.[8]

Prvi zapisi i objektivna mjerenja vibracija glasnica korištenjem brze filmske slike pojavljuju se tridesetih godina prošlog stoljeća (dr. Paul Moore), a detaljni opis radova i razvoja nove tehnologije donosi P. Woo u svom članku *Objective Measures of Laryngeal Imaging: What Have We Learned Since Dr. Paul Moore*.[9] Sama tehnologija zbog svoje nepraktičnosti i velikih problema s izuzetno dugotrajnim postupcima razvoja i analize filma dugo se koristila samo u istraživačke svrhe. Godine 1976. niz autora ukazuje na moguću ulogu računala u prevladavanju nedostataka s ručnim mapiranjem slike glasnica[10], a nakon toga u seriji publikacija razvoj digitalne tehnologije i razvoj digitalne kimografije pospješuje razvoj ultrabrze laringealne videoendoskopije kakvu poznajemo danas.[11,12,13]

Današnje ultrabrze laringealne videoendoskopije mogu snimati slike u stvarnom vremenu i do 20.000 slika u sekundi, sa stalnim osvjetljenjem, visokom rezolucijom i kvalitetom slike, omogućavajući nam praćenje gibanja glasnica u detalje. Prema preporukama europskoga medicinskog priručnika *Phoniatrics I. Fundamentals – Voice Disorders – Disorders of Language and Hearing Development*, u svakodnevnom radu trebale bi se koristiti kamere od minimalno 4.000 slika u sekundi zbog bolje rezolucije i kvalitete.[14]

Jedna vibracija (otvaranje i zatvaranje glasnica) prilikom fonacije označava glotalni ciklus. Ako se jedan glotalni ciklus gleda trodimenzionalno, to znači da opisujemo njegovu amplitudu, frekvenciju (brzinu vi-

bracije glasnica) i oblik (odnos između faze otvaranja i zatvaranja vibracija glasnica). Fundamentalna frekvencija odnosi se na broj vibracija koje glasnice učine u jednoj sekundi.[15,16] Normalne glasnice obično se tijekom fonacije otvaraju i zatvaraju više od 100 puta u sekundi i vibriraju brzinama od približno jedan metar u sekundi. Prosječna fundamentalna frekvencija muškoga glasa iznosi oko 120 Hz, a ženskog 225 Hz. Što je veći broj vibracija glasnica, viša je vrijednost fundamentalne frekvencije pa i glas doživljavamo kao viši.[16] Glotalni ciklus odvija se kroz nekoliko faza. Nakon voljno započetog inspirija, slijedi prefonacijski ekspirij, glasnice su zatvorene. Djelomična opstrukcija ekspiracijske zračne struje izaziva povećanje subglotidnog tlaka koji razmiče glasnice – Bernoullijev učinak. Razmaknuti položaj glasnica traje toliko dugo dok se ne smanji subglotidni tlak ispod kritične granice, odnosno dok se ne ispusti zrak, što zahtijeva novi prefonacijski inspirij, glasnice se vraćaju u zatvorenu fazu. Pojam „zatvorena faza“ (glotalno zatvaranje) označava izgled larinksa prilikom „najzatvorenije“ faze jednoga glotalnog ciklusa kada glasnice promatramo odozgo, iz ptičje perspektive. Razlikujemo: potpuno zatvaranje, prednji rascjep, stražnji rascjep, rascjep u obliku pješčanog sata, u obliku vretena, iregularno zatvaranje, nepotpuno zatvaranje. Pri normalnoj fonaciji glasnice su najčešće u zatvorenoj fazi.[15]

Ultrabrzom laringealnom videoendoskopijom normalnih glasnica tijekom fonacije svaki glotalni ciklus predstavljen je s najmanje 2.000 slika u sekundi sakupljenih unutar toga istog ciklusa. Snimanje je u realnom vremenu i odvija se neprestano, tako da ne mogu nedostajati informacije između dva okvira snimanja.[17,18]

Posljednjih nekoliko godina sve se više pažnje okreće prema korištenju fleksibilne fiberoptičke ultrabrze kamere i njezinom benefitu. Prvi preliminarni podatci 2016. godine opisani su u istraživanju Woo i sur. na 22 bolesnika s normalnim i patološkim uzorkom fonacije.[19] Iako snimke nisu toliko jasne kao pomoću snimanja krutim endoskopom, fleksibilni pristup ispitivanju omogućuje pregled gotovo svih bolesnika bez neprirodnog povlačenja jezika za adekvatan vizualni prikaz fonacijskog aparata, bez izazivanja nadražaja zbog transoralnog umetanja instrumenta kao kod krutog endoskopa. Sâm oblik pregleda ne ometa normalnu artikulaciju pa se tako može koristiti za proučavanje vibracijskog uzorka tijekom povezanog govora.[20] Velika očekivanja su usmjerena u daljnji razvoj ove dijagnostičke metode.

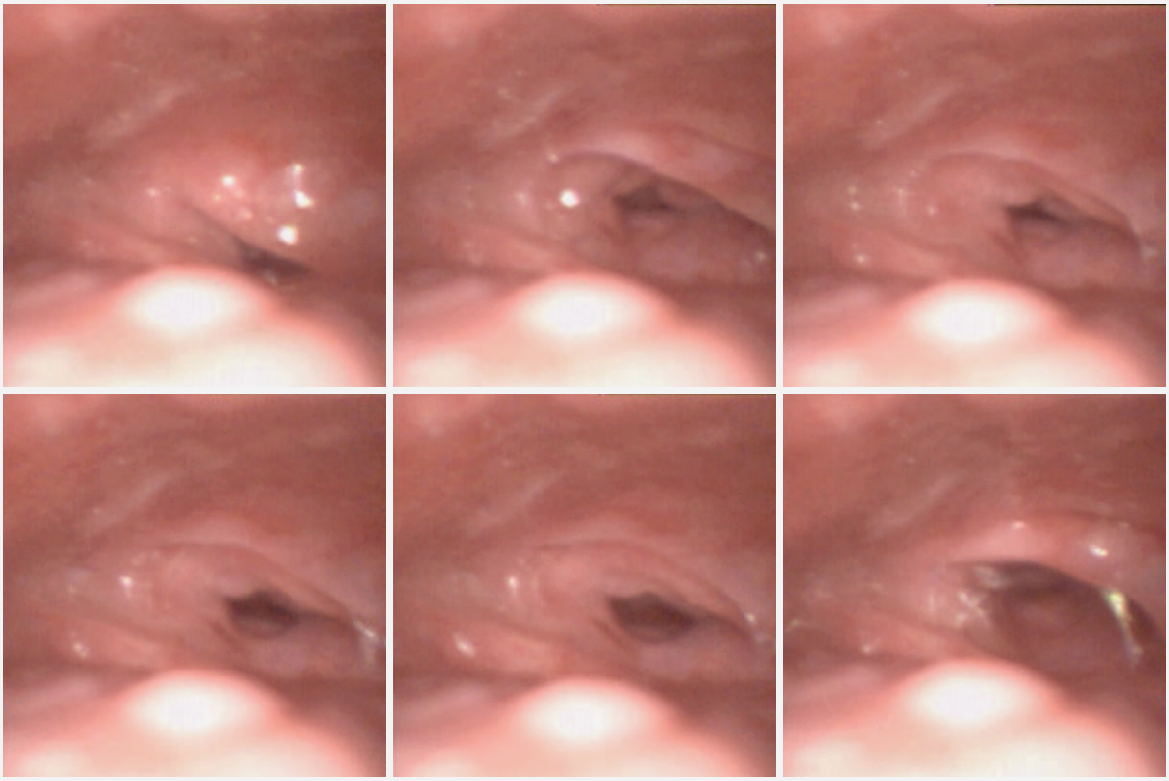
Početkom korištenja ultrabrze laringealne videoendoskopije u praksi pokazale su se potrebe za standardizacijom obrazaca za procjenu i kliničku upotrebu.[21,22,23] Da bi se stvorio obrazac za ocjenjivanje i obrazac protokola za edukaciju koji se može koristiti za izradu kvalitetnog nalaza bilo je potrebno nekoliko desetljeća. Godine 2016. Poburka i ostali autori stvaraju obrazac VALI koji opisuje realnu vizualno perceptualnu evaluaciju ultrabrze videoendoskopije i dopunu obrasca videostroboskopije.[24] Razvijeni obrasci pokazali su se učinkovitima u svakodnevnoj praksi.

Prednosti ultrabrze videoendoskopije u odnosu na videostroboskopiju

Videostroboskopija glasnica danas je jedna od najvažnijih instrumentalnih metoda u otorinolaringologiji i igra važnu ulogu u kliničkoj procjeni i otkrivanju poremećaja mukoznog vala glasnica. Omogućuje nam promatranje vibracija glasnica koristeći pseudousporeno snimanje te nam pruža vizualnu informaciju o kretanju glasnica koristeći pulsirajući izvor svjetlosti. Metoda se zasniva prema Talbotovom zakonu. Ako periodičnim svjetlom obasjamo različite točke za vrijeme kontinuiranog kretanja glasnica, vizualno ćemo dobiti dojam usporenoga gibanja glasnica. Glasnice će izgledati statično kada je frekvencija stroboskopskih bljeskova jednaka vibraciji glasnica.[15] Kako bismo dobili stroboskopski učinak potrebno je periodično gibanje glasnica, odnosno kod aperiodičnog gibanja stroboskopsko svjetlo postaje asinkronizirano i ne može se dobiti prividno usporeno gibanje glasnica. Također, potreban je zvučni signal mikrofona radi određivanja frekvencije tona i usklađivanja frekvencije stroboskopskog svjetla. Za razliku od videostroboskopije, za ultrabrzu videoendoskopiju nije potreban zvučni zapis. Ultrabrza videoendoskopija omogućuje videozapis vibracija sluznice neovisno o iregularnosti njihova gibanja. Možemo pratiti vibratorne prekide i karakteristike gibanja grkljana prisutnih kod spazma, možemo pratiti početak i kraj fonacije te brze kretnje larinksa kao kod kašlja, smijanja, pročišćavanja grla. Snaga ultrabrze laringealne videoendoskopije leži u visokoj realno prostorno-vremenskoj razlučivosti omogućavajući preciznu vizualizaciju „nestacionarne“ dinamike grkljana.[17,18]

Nedostatci ultrabrze videoendoskopije

Nažalost, bez obzira na veliku količinu dobivenih snimki, to je velika snaga, no isto tako i veliki nedostatak ultrabrze laringealne videoendoskopije zbog potrebnog vremena za njihov pregled. Stoga se uzimaju kraći segmenti koji uključuju samo nekoliko glotidnih ciklusa koji mogu pružiti relevantne podatke.[17,18] I dalje nam je potrebna objektivna mjera koja može automatski odrediti segmente koji su suvišni i segmente koji su reprezentativni za dokumentiranje i usporedbu sadržaja ultrabrze laringealne videoendoskopije. Kako bi se ova mjerenja izvršila automatski, istraživači prvo moraju izgraditi valjane, pouzdane i točne algoritme



Slika 2. Primjer slike u boji laringektomiranog bolesnika pomoću ultrabrze videoendoskopije
Figure 2. Example of a color image of laryngectomized patient with high-speed videoendoscopy

segmentacije i registracije koja će nam omogućiti navigaciju kroz bogati sadržaj do mapiranja specifičnih područja od interesa. Taj proces stvaranja odgovarajućih algoritama još je u tijeku, tako da je do danas stvoreno nekoliko softverskih programa za analizu slika snimljenih ultrabrzom kamerom. U kontekstu ultrabrze laringealne videoendoskopije postoje tri vrste segmentacije: vremenska, slikovna i kimografska (prostorno-vremenska) segmentacija. Slično informacijama dobivenim digitalnom kimografijom, ali istovremeno analizirajući cjelokupan superiorni prikaz glasnica razvijen je pojam GAW (engl. *glottal area waveform*), opisan u istraživanju Woo P., koji pomaže integrirati veliku količinu dobivenih podataka.[25]

Prikaz fonatornog gibanja faringoezofagealnog segmenta ultrabrzom videoendoskopijom

Od 2000. godine, kada započinje brži razvoj ultrabrze laringealne videoendoskopije, mnoge studije fokusirale su se na razvijanje i objašnjavanje normalnog ponašanja glasnica. Posebno je zanimljiva studija Ahmad i sur., gdje opisuju kako se „normalno gibanje glasnica" i glas koji se percipira kao normalan može proizvesti s nekoliko različitih vibracijskih uzoraka, ali redovitost vibracija će ostati stalna.[26] Zatim su uslijedila mnoga istraživanja poremećenog ponašanja gibanja glasnica. Jedna od prvih takvih studija bila je Inwald i sur.[27] gdje su se proučavali bolesnici s funkcionalnom disfonijom i paralizom glasnica, a Patel i sur. svoj fokus usmjeravaju prema pronalaženju razlika u procjeni vokalnog tremora između *muscule tension* disfonije i aduktorne laringealne distonije[28] te svojim istraživanjem pokazuju superiornost ultrabrze laringealne videoendoskopije u odnosu na stroboskopiju baš zbog specifičnog tremora i prekida u fonaciji, odnosno kretnji koje stroboskop ne može mjeriti. Razlike između tih dviju patologija i pronalaženje novih spoznaja traju i danas. U svom istraživanju Chen, Woo i sur. 2018. godine nastavljaju prikazivati uspješnost ultrabrze laringealne videoendoskopije na šest ispitanika s aduktornom laringealnom distonijom i pet ispitanika s *muscule tension* disfonijom te pronalaze značajne razlike u vibracijskom obrascu koji se može koristiti kao diferencijalno-dijagnostička metoda tih dviju vrsta disfonije.[29]

Potencijalnu uporabu ultrabrze videoendoskopije na laringektomiranim osobama opisuju nam van As i suradnici. Prvim u nizu svojih istraživanja 46 laringektomiranih osoba objasnili su anatomske i morfološke karakteristike faringoezofagealnog segmenta (slika 2).

Opisali su oblik, mjesto vidljive vibracije, no isto tako su pronašli velike varijacije u vibraciji sluznice čak i kod osoba s istom vrstom operacije i rekonstrukcije.[30] Varijable koje su koristili za vizualnu procjenu brzih digitalnih snimki bile su podijeljene na one koje su se odnosile na procjenu ukupne kvalitete slike (ukupna kvaliteta snimke, osvijetljenost i stupanj fokusiranja relevantnih dijelova) i sedam anatomskih i morfoloških karakteristika (količina sline vidljive prilikom snimanja, sama vidljivost faringoezofagealnog segmenta i njegovog oblika, mjesto i pravilnost vidljive vibracije, zatvorenost/otvorenost faze, prisutnost mukoznog vala sluznice). Samim istraživanjem prikazana je vrijednost ultrabrze videoendoskopije kao jedine metode kojom se mogu vizualizirati vibracije faringoezofagealnog segmenta pri fonaciji i kojom dobivamo pogled odozgo, iz ptičje perspektive.[30] Istraživanjem su kod većine ispitanika jaki val vibracije pronašli uglavnom u cijeloj cirkumferenciji faringoezofagealnog segmenta, a oblik segmenta koji je prevladavao jest „*split side-to-side*". Sljedećim istraživanjem koje je uslijedilo 2004. godine van As i sur. povezuju ultrabrzu videoendoskopiju i videofluoroskopiju i opisuju dva „pogleda" faringoezofagealnog segmenta – odozgo pomoću ultrabrze videoendoskopije i lateralni pogled pomoću videofluoroskopije,[31] a već iduće godine pomoću ultrabrze digitalne snimke i perceptivnih tehnika za procjenu kvalitete alaringealnog glasa povezuju u cjelinu anatomske i funkcionalne karakteristike faringoezofagealnog segmenta.[32] Za razliku od van As i sur., Lundström i Hammarberg opisuju najčešću vibraciju faringoezofagealnog segmenta u području stražnje stijenke, što se možda može objasniti činjenicom da je u istraživanju korištena fleksibilna endoskopija, no kako sami autori navode, istraživanje je bilo provedeno na četiri ispitanika, što je nedostatno i potrebna su daljnja istraživanja. No, ono što su istaknuli u svojoj studiji jest da kombinacijom akustične analize i ultrabrze videoendoskopije dobivamo nove spoznaje koje bi trebale biti korisne u rehabilitaciji govora.[33] Arenaz Búa i sur. po prvi put u istraživanju koriste „*high-resolution*" videomanometriju u kombinaciji s endoskopskom procjenom gutanja i ultrabrzom videoendoskopijom kako bi okarakterizirali faringoezofagealni segment u laringektomiranih osoba koji su ocijenjeni kao dobri govornici. Na 14 ispitanika koji su sudjelovali u studiji pronašli su značajnu povezanost između loše kvalitete glasa, starosti i hiperfunkcije faringoezofagealnog segmenta. Pomoću videomanometrije tijekom fonacije prikazali su niže tlakove u distalnom dijelu jednjaka u usporedbi s normalnim ispitanicima te niže vrijednosti tlakova u faringoezofagealnom segmentu, a i tlakovi se smanjuju od distalnog dijela jednjaka prema ždrijelu, što pokazuje koliko jednjak doprinosi protoku zraka neophodnom za stvaranje traheoezofagealnog govora.[34]

Zaključak

Ultrabrza videoendoskopija pruža najpouzdaniju objektivnu kvantifikaciju vibracijskog ponašanja vokalne sluznice bez obzira je li ponašanje periodično ili aperiodično. Sama tehnologija već pomaže u usmjeravanju inovacija u kirurškim metodama i razvoju bioimplantata za oporavak oštećenog superficijalnog sloja glasnice koji je jedan od glavnih uzroka promuklosti. Ultrabrza videoendoskopija je jedina metoda koja vizualizira i mjeri vibracije faringoezofagealnog segmenta nakon laringektomije. Otkrivanjem poremećaja u karakteristikama fonatornog gibanja sluznice faringoezofagelanog segmenta moći ćemo bolje objasniti poteškoće u produkciji glasa te utjecati na tehnike rekonstrukcije faringoezofagelanog segmenta prilikom operativnog zahvata i bolje planirati i prilagoditi rehabilitacijske postupke mogućnostima svakog bolesnika. Brzi digitalni videoendoskopski sustavi bez sumnje mnogo obećavaju, no daleko od toga da su gotov proizvod spreman za masovnu kliničku uporabu. Unatoč očitim prednostima, ultrabrza videoendoskopija još nije postigla široku kliničku primjenu zbog preostalih tehničkih, metodoloških i praktičnih problema. Nema standardiziranih kliničkih protokola i nema dovoljno poticaja među kliničarima da implementiraju ovu novu, skupu tehnologiju. Stoga su neophodna daljnja klinička istraživanja o valjanosti i kliničkoj važnosti ultrabrze videoendoskopije.

LITERATURA

1. *Matev B, Asenov A, Stoyanov GS, Nikiforova LT, Sapundzhiev NR.* Losing One's Voice to Save One's Life: A Brief History of Laryngectomy. Cureus. 2020;12(6):e8804.
2. *Kaye R, Tang CG, Sinclair CF.* The electrolarynx: voice restoration after total laryngectomy. Med Devices (Auckl). 2017; 10:133–140. doi:10.2147/MDER.S133225
3. *Gates GA, Hearne EM.* Predicting esophageal speech. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1982;91(4 Pt 1):454–7. doi: 10.1177 /000348948209100428
4. *Singer M, Blom E.* An endoscopic technique for restoration of voice after laryngectomy. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1980; 89:529–32.
5. *Chen HC, Kim Evans KF, Salgado CJ, Mardini S.* Methods of voice reconstruction. Semin Plast Surg. 2010;24(2):227–32. doi: 10.1055/s-0030-1255340
6. *Kazi R, Rhys-Evans P, Nutting CM, Harrington KJ.* The great debate: stroboscopy vs high-speed imaging for assessment of alaryngeal phonation. J Cancer Res Ther. 2009;5(2):121–3. doi: 10.4103/0973-1482.52796
7. *Moon J, Weinberg B.* Aerodynamic and myoelastic contributions to tracheoesophageal voice production. J Speech Hear Res. 1987; 30: 387–95.
8. *Deliyski DD, Hillman RE, Mehta DD.* Laryngeal High-Speed Videoendoscopy: Rationale and Recommendation for Accurate and Consistent Terminology. J Speech Lang Hear Res. 2015;58(5):1488–92. doi: 10.1044/2015_JSLHR-S-14-0253

9. *Woo P.* Objective measures of laryngeal imaging: what have we learned since Dr. Paul Moore. J Voice. 2014;28(1):69–81. doi: 10.1016/j.jvoice.2013.02.001
10. *Childers DG, Paige A, Moore GP.* Laryngeal vibration patterns. Machine-aided measurements from high-speed film. Arch Otolaryngol. 1976;102(7):407–10. doi:10.1001/archotol.1976.00780120055006
11. *Eysholdt U, Lohscheller J.* Phonovibrogramm: Stimmlippendynamik in einem Bild [Phonovibrogram: vocal fold dynamics integrated within a single image]. HNO. 2008;56(12):1207–12. doi: 10.1007/s00106-007-1541-9
12. *Schutte HK, Svec JG, Sram F.* First results of clinical application of videokymography. Laryngoscope. 1998;108(8 Pt 1):1206–10. doi: 10.1097/00005537-199808000-00020
13. *Svec JG, Sram F, Schutte HK.* Videokymography in voice disorders: what to look for? Ann Otol Rhinol Laryngol. 2007;116(3):172–80. doi: 10.1177/000348940711600303
14. *Angerstein W, Baracca G, Dejonckere P.* Diagnosis and Differential Diagnosis of Voice Disorders. U: am Zehnhoff-Dinnesen A, Wiskirska-Woznica B, Neumann K, Nawka T, ur. Phoniatrics I. Fundamentals – Voice Disorders – Disorders of Language and Hearing Development. Berlin: Springer-Verlag GmbH Germany; 2020, str. 370–1.
15. *Wen Xu.* Theoretical Background and Procedures. U: Wen Xu, ur. Atlas of Strobolaryngoscopy: Laryngeal Disorders. Singapur: Springer Nature Singapore Pte Ltd. and Peoples Medical Publishing House; 2019, str. 4–13.
16. *Varošanec-Škarić G.* Timbar – boja glasa – kvaliteta glasa. U: Varošanec-Škarić G, ur. Timbar. Zagreb: Filozofski fakultet Sveučilišta u Zagrebu: FF-press; 2005, str. 38–82.
17. *Kendall KA.* High-speed digital imaging of the larynx: recent advances. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2012;20(6):466–71. doi: 10.1097/MOO.0b013e328359840d
18. *Deliyski DD, Petrushev PP, Bonilha HS, Gerlach TT, Martin-Harris B, Hillman RE.* Clinical implementation of laryngeal high-speed videoendoscopy: challenges and evolution. Folia Phoniatr Logop. 2008;60(1):33–44. doi: 10.1159/000111802
19. *Woo P, Baxter P.* Flexible Fiber-Optic High-Speed Imaging of Vocal Fold Vibration: A Preliminary Report. J Voice. 2017;31(2):175–81. doi: 10.1016/j.jvoice.2016.07.015
20. *Naghibolhosseini M, Deliyski DD, Zacharias SRC, de Alarcon A, Orlikoff RF.* Temporal Segmentation for Laryngeal High-Speed Videoendoscopy in Connected Speech. J Voice. 2018;32(2):256.e1–256.e12. doi: 10.1016/j.jvoice.2017.05.014
21. *Patel R, Dailey S, Bless D.* Comparison of high-speed digital imaging with stroboscopy for laryngeal imaging of glottal disorders. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2008;117(6):413–24. doi: 10.1177/000348940811700603
22. *Poburka BJ.* A new stroboscopy rating form. J Voice. 1999;13(3):403–13. doi: 10.1016/s0892-1997(99)80045-9
23. *Yamauchi A, Imagawa H, Yokonishi H, Nito T, Yamasoba T, Goto T i sur.* Evaluation of vocal fold vibration with an assessment form for high-speed digital imaging: comparative study between healthy young and elderly subjects. J Voice. 2012;26(6):742–50. doi: 10.1016/j.jvoice.2011.12.010
24. *Poburka BJ, Patel RR, Bless DM.* Voice-Vibratory Assessment With Laryngeal Imaging (VALI) Form: Reliability of Rating Stroboscopy and High-speed Videoendoscopy. J Voice. 2017;31(4):513.e1–513.e14. doi: 10.1016/j.jvoice.2016.12.
25. *Woo P.* Quantification of videostrobolaryngoscopic findings--measurements of the normal glottal cycle. Laryngoscope. 1996;106(3 Pt 2)Suppl 79:1–27. doi: 10.1097/00005537-199603001-00001
26. *Ahmad K, Yan Y, Bless DM.* Vocal fold vibratory characteristics in normal female speakers from high-speed digital imaging. J Voice. 2012;26(2):239–53. doi: 10.1016/j.jvoice.2011.02.001
27. *Inwald EC, Döllinger M, Schuster M, Eysholdt U, Bohr C.* Multiparametric analysis of vocal fold vibrations in healthy and disordered voices in high-speed imaging. J Voice. 2011;25(5):576–90. doi: 10.1016/j.jvoice.2010.04.004
28. *Patel RR, Liu L, Galatsanos N, Bless DM.* Differential vibratory characteristics of adductor spasmodic dysphonia and muscle tension dysphonia on high-speed digital imaging. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2011;120(1):21–32. doi: 10.1177/000348941112000104
29. *Chen W, Woo P, Murry T.* Vibratory Onset of Adductor Spasmodic Dysphonia and Muscle Tension Dysphonia: A High-Speed Video Study. J Voice. 2020;34(4):598–603. doi: 10.1016/j.jvoice.2018.12.010
30. *van As CJ, Tigges M, Wittenberg T, Op de Coul BM, Eysholdt U, Hilgers FJ.* High-speed digital imaging of neoglottic vibration after total laryngectomy. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1999;125(8):891–7. doi: 10.1001/archotol.125.8.891
31. *Van As CJ, Op De Coul BM, Eysholdt U, Hilgers FJ.* Value of digital high-speed endoscopy in addition to videofluoroscopic imaging of the neoglottis in tracheoesophageal speech. Acta Otolaryngol. 2004;124(1):82–89. doi: 10.1080/00016480310015290
32. *Van As-Brooks CJ, Hilgers FJ, Koopmans-van Beinum FJ, Pols LC.* Anatomical and functional correlates of voice quality in tracheoesophageal speech. J Voice. 2005;19(3):360–72. doi: 10.1016/j.jvoice.2004.07.011
33. *Lundström E, Hammarberg B.* High-speed imaging of the voicing source in laryngectomees during production of voiced-voiceless distinctions for stop consonants. Logoped Phoniatr Vocol. 2004;29(1):31–40. doi: 10.1080/14015430410026144
34. *Arenaz Búa B, Olsson R, Westin U, Rydell R.* The Pharyngoesophageal Segment After Total Laryngectomy. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2017;126(2):138–45. doi: 10.1177/0003489416681321

Liječ Vjesn 2022;144:96–105
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-6

Pregled | Review

Epigenetički biljezi u tumorima glave i vrata: posebni osvrt na tumore orofarinksa povezane s HPV-om

Epigenetic markers in head and neck cancer: special view on HPV-associated oropharyngeal cancer

Nina Milutin Gašperov[1], Ivan Sabol[1]✉, Vjekoslav Tomaić[1], Magdalena Grce[1]✉

[1] Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, Zagreb

Deskriptori
KARCINOM PLOČASTIH STANICA GLAVE I VRATA – genetika, liječenje, virologija; TUMORI OROFARINKSA – genetika, liječenje, virologija; TUMORSKI BIOMARKERI – genetika; KARCINOGENEZA – genetika; MikroRNK – genetika; METILACIJA DNK; EPIGENETSKI MEHANIZMI; TUMOR SUPRESORSKI GENI; VIRUSNI ONKOPROTEINI – genetika; PAPILOMAVIRUSNE INFEKCIJE – genetika, virologija; HUMANI PAPILOMAVIRUS 16

SAŽETAK. Unatoč kontinuiranim naporima da se identificiraju molekularni biljezi za rano otkrivanje tumora glave i vrata (engl. HNC, *head and neck cancer*) te poboljšanoj terapiji, ukupno preživljenje i prognoza bolesnika s HNC-om i dalje su loši. Znanstveni dokazi sugeriraju da tumori povezani s HPV-om imaju bolju prognozu i preživljenje. Nadalje, epigenetičke promjene su općenito često uključene u karcinogenezu, napredovanje tumora glave i vrata te rezistenciju na terapiju. Stoga razumijevanje i karakterizacija epigenetičkih modifikacija povezanih s karcinogenezom tumora glave i vrata obećavaju identifikaciju epigenetičkih biljega za rano otkrivanje raka i poboljšanje terapijskih pristupa u borbi protiv raka. U ovom preglednom radu dan je osvrt na trenutno znanje o epigenetičkim modifikacijama, odnosno metiliranju DNA i mikroRNA uočenim kod HNC-a, posebno kod tumora orofarinksa pozitivnih na HPV.

Descriptors
SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF HEAD AND NECK – genetics, therapy, virology; OROPHARYNGEAL NEOPLASMS – genetics, therapy, virology; BIOMARKERS, TUMOR – genetics; CARCINOGENESIS – genetics; MicroRNAs – genetics; DNA METHYLATION; EPIGENESIS, GENETIC; GENES, TUMOR SUPPRESSOR; ONCOGENE PROTEINS, VIRAL – genetics; PAPILLOMAVIRUS INFECTIONS – genetics, virology; HUMAN PAPILLOMAVIRUS 16

SUMMARY. Despite continuous efforts to identify molecular markers for the early detection of head and neck cancer (HNC), and improved therapy, the overall survival and prognosis of HNC patients still remain poor. Scientific evidences suggest that HPV-associated HNC had better prognosis and survival. Furthermore, epigenetic alterations are generally frequently involved in carcinogenesis, tumor progression and resistance to therapy. Thus, understanding and characterization of epigenetic modifications associated with head and neck carcinogenesis promise the identification of epigenetic markers for the early detection of cancer and improvement of therapeutic approaches to fight cancer. In this review, the focus is on the current knowledge on epigenetic modifications regarding DNA methylation and microRNAs observed in HNC, particularly in HPV-positive oropharyngeal cancer.

Godinama su se napori u istraživanju raka usredotočili na genetičke osnove razvoja i napredovanja tumora, identificirajući mutacije i karakterizirajući puteve koji aktiviraju onkogene i inaktiviraju gene supresore tumora.[1] U zadnje vrijeme istraživanja su usmjerena na epigenetičke promjene kao kritične promjene uključene u iniciranje i napredovanje karcinoma. Epigenetika se odnosi na stabilne i nasljedne promjene u ekspresiji gena bez promjena u slijedu DNA.[2] Epigenetičke promjene su temeljni mehanizmi za karcinogenezu i mogu poslužiti kao moguće metode za rano otkrivanje, liječenje i prognostičku procjenu za pacijente s rakom.[3] Epigenetičke modifikacije uključuju metiliranje DNA, kovalentne modifikacije histona, preoblikovanje kromatina, učinak nekodirajuće RNA (mikroRNA) te utjecaj grupe proteina *Polycomb* u ekspresiji gena.[4,5] Epigenetičke promjene događaju se nesustavno ili kao dio regulacije mehanizama transkripcije, promičući selektivnu prednost tumora utišavanjem gena za supresiju tumora ili disfunkcijom u genima za popravak DNA. Epigenetičke modifikacije također doprinose staničnoj plastičnosti tijekom progresije tumora i stvaranju stanica koje iniciraju tumor ili matičnih stanica raka.[6] U ovom radu dan je osvrt na trenutno znanje o epigenetičkim modifikacijama uočenim kod tumora glave i vrata, posebno tumora povezanih s HPV-om, poglavito orofarinksa u kontekstu metiliranja DNA i ekspresije mikroRNA.

Tumori glave i vrata

Tumori glave i vrata (engl. HNC, *head and neck cancer*) obuhvaćaju tumore usta, nosa, grla, grkljana, ždrijela, sinusa ili žlijezda slinovnica te se u većini slučajeva odnose na tumore pločastih epitelnih stanica (engl. SCC, *squamous cell carcinoma*) sluznice dišnog trakta i oralne šupljine. Tumori glave i vrata su sedmi po učestalosti među tumorima i deveti po redu uzroka smrti kod ljudi diljem svijeta. Godišnje se procjenjuje oko 780.000 slučajeva te 350.000 slučajeva smrti od tumora

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Dr. sc. Ivan Sabol, dr. med. https://orcid.org/0000-0002-5753-8528
i dr. sc. Magdalena Grce, dr. med. https://orcid.org/0000-0001-6178-8418
Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, Zagreb,
e-pošta: isabol@irb.hr; grce@irb.hr

Primljeno 26. ožujka 2021., prihvaćeno 25. listopada 2021.

Tablica 1. Kliničke i biološke razlike HPV-negativnih i HPV-pozitivnih tumora glave i vrata.

Table 1. Clinical and biological differences between of HPV-negative and HPV-positive head and neck tumors

Svojstvo tumora glave i vrata / Characteristics of head and neck tumor	HPV-pozitivni tumor / HPV-positive tumor	HPV-negativni tumor / HPV-negative tumor
Prevalencija* / Prevalence*	20%	80%
Incidencija** / Incidence**	u porastu / increasing	u padu / decreasing
Etiologija / Etiology	oralni seks / oral sex	pušenje i pretjerana konzumacija alkohola / smoking and excessive alcohol consumption
Dob / Gender	< 60 godina / years	> 60 godina / years
Premaligne promjene / Premalignant changes	nepoznate / unknown	opisane / described
Mutacije gena *TP53* / TP53 gene mutation	rijetke / rare	učestale / frequent
Predispozicija sijela / Predisposition	orofarinks / oropharynx	nema / none
Prognoza / Prognosis	povoljna / favorable	loša / bad

*informativna prevalencija/informative prevalence; **u razvijenim zemljama/in developed countries

glave i vrata, a petogodišnje preživljenje oboljelih je oko 40–50%.[7]

Čimbenici rizika razvoja tumora glave i vrata jesu izloženost karcinogenima, osobito pušenju duhana i konzumaciji alkohola, infekcija visokorizičnim tipovima HPV-a, poglavito HPV-16 te genetska predispozicija. Tumori glave i vrata su heterogeni, no često se dijele na dvije skupine: HPV-pozitivni (s boljom prognozom) i HPV-negativni tumori (s lošijom prognozom) (tablica 1); novija istraživanja ukazuju na dodatnu genetsku subklasifikaciju HPV-negativnih tumora, od kojih neki također imaju bolju prognozu.[8] Nadalje, zna se da je HPV najčešći uzročnik karcinoma skvamoznih stanica orofarinksa.[1] Iako postoje sve čvršći dokazi da je HPV-pozitivni karcinom skvamoznih stanica glave i vrata povezan s boljim preživljenjem, za što se vjeruje da je zbog boljeg odgovora na kemoterapiju, specifični mehanizmi za ove poboljšane ishode i dalje su neistraženi.[9]

Gotovo svi tumori glave i vrata imaju promijenjenu ekspresiju gena uključenih u stanični ciklus.[10] Neograničeni replikativni potencijal stanica tumora glave i vrata temelji se na ukidanju signalnih puteva produkata tumor-supresorskih gena, poglavito p53 i retinoblastoma (pRB), što dovodi do ometanja regulacije staničnog ciklusa. Smatra se da je p53 najznačajniji tumor supresor, koji suzbija rast tumora putem aktivacije transkripcije ciljnih gena koji reguliraju brojne biološke procese.[11] U HPV-negativnim tumorima glave i vrata p53 je mutiran te na taj način inaktiviran u gotovo 60–84% slučajeva i stoga se gubi kontrola nad nizom staničnih procesa, što dovodi do imortalizacije pogođenih stanica, a potom transformacije (pretkanceroze) i, u konačnici, invazije. Nadalje, u HPV-negativnim tumorima učestale se kromosomske promjene i mutacije gena, za razliku od HPV-pozitivnih tumora.[1]

Gotovo svaki HPV-pozitivni tumor glave i vrata, od kojih su najčešći tumori orofarinksa, sadrži HPV-16, čiji se genom vrlo često ugrađuje u genom domaćina, odnosno u oko 50% slučajeva karcinoma, dok kod ostalih tumora ostaje u episomalnoj formi. Uslijed integracije virus gubi sposobnost daljnje reprodukcije, a stoga i infektivnost; ujedno gubi virusne gene koji negativno reguliraju ekspresiju onkogena E6 i E7 koji su na taj način pretjerano izraženi. Onkoproteini E6 i E7 igraju presudnu ulogu u kancerogenezi tumora glave i vrata. Naime, onkoprotein E6 uz pomoć ubikvitin-protein ligaze E6AP veže i razgrađuje p53 (12), dok E7 veže i razgrađuje pRb uz pomoć ubikvitin-*Cullin*-2 kompleksa.[13] Njihovo zajedničko djelovanje dovodi do pretjerane proliferacije stanica bez mogućnosti popravka oštećene DNA, imortalizacije stanica, genetske nestabilnosti, gubitka stanične polarnosti te konačne transformacije stanice domaćina, odnosno invazivnog karcinoma.[14]

Tumori glave i vrata kao heterogena skupina tumora podrijetlom s različitih sijela mogu pokazivati različito ponašanje koje histopatologija primarnog tumora nije u mogućnosti predvidjeti, ali može biti uočeno drugim metodama poput genetičkog ili epigenetičkog profiliranja gena.[15]

Metiliranje DNA

Metiliranje DNA je najčešća epigenetička i iznimno važna promjena uključena u razvoj tumora glave i vrata, poglavito orofarinksa. Naime, smatra se da je jedna od važnih komponenti rezistencije na lijekove u terapiji raka upravo ta epigenetička promjena.[16] Metiliranje DNA je promjena koja suprimira gensku ekspresiju, a koja nije uzrokovana promjenom u slijedu DNA, a prenosi se i na stanice kćeri. Metiliranje se događa dodavanjem metilne skupine (CH_3) uglavnom ugljiku na položaju br. 5 dušične baze citozin (C) unutar CG dinukleotida u tzv. CpG otocima. Promijenjeno metiliranje ili hipermetiliranje u promotorskim regijama nekih tumor-supresorskih te drugih važnih gena dovodi do promjena u biološkim procesima poput proliferacije, apoptoze, stanične diferencijacije, adhezije te u regulaciji staničnog ciklusa.[17] Ovo se događa poglavito u stanicama karcinoma, u kojima je zabilježena sveukupna hipometiliranost genoma (slika 1), što dodatno izaziva genomsku nestabilnost i

vodi do transformacije stanica.[18] Metiliranje DNA je reverzibilan proces, što otvara nove mogućnosti pri upotrebi epigenetičkih terapijskih tehnika[19] te razvoja epigenetičkih lijekova, od kojih su neki već odobreni od agencija za lijekove (EMEA, *European Commission and Medicines Agency*; FDA, *Food and Drug Administration*)[20]. Kako su epigenetičke promjene dinamične i reverzibilne, jasno je i da epigenetički enzimi također mogu predstavljati prikladne mete za razvoj učinkovitijih terapijskih strategija u liječenju tumora orofarinksa.[21]

Metilacijski biomarkeri

Osim u karcinomima, promjena metiliranja DNA događa se i u drugim patološkim i nepatološkim stanjima te predstavlja dobar biomarker za različita stanja kao što su i tumori glave i vrata. Do sada su proučavani različiti geni čije promijenjeno metiliranje može ukazivati na tumore glave i vrata, poglavito tumore orofarinksa. Različiti autori ističu različite gene promijenjenog metiliranja kao moguće biomarkere tumora glave i vrata.[17,22–27]

Među prvima proučavanim bili su promotori gena za regulaciju staničnog ciklusa, p16INK4A i p14ARF, čija bi metiliranost ukazivala na razvoj tumora orofarinksa. Pokazalo se da je p16INK4A obećavajući mogući biomarker za predviđanje kliničkog ishoda ovih tumora, posebno za preživljavanje bez recidiva.[28] Nešto kasnija studija pronašla je učestalo metiliranje gena OCLN, CDKN2A, MGMT, MLH1 i DAPK1 u oralnim i orofaringealnim tumorima, s tim da su samo DAPK1 i MGMT imali prediktivnu vrijednost za nodalne metastaze.[29]

Ranije studije su među više kandidata za biomarkere tumora orofarinksa istaknule hipermetiliranje gena CDKN2A i CDH1, s tim da je metiliranost CDKN2A bila u korelaciji s boljom prognozom.[30] Zanimljivo, u nedavno objavljenoj studiji DNA-metiloma tumora glave i vrata Milutina Gašperova i suradnika, metodom *Infinium MethylationEPIC BeadChip*, među raznim potencijalnim biomarkerima upravo je hipermetilirani gen CDH1, uključen u staničnu adheziju, istaknut kao dobar biljeg za razlikovanje karcinoma od oralnih lezija te od zdrave oralne sluznice.[31]

Nadalje, Bai i sur. prepoznaju pet gena kao prognostičke biomarkere tumora glave i vrata, a ujedno i orofarinksa, značajno povezanih sa sveukupnim preživljavanjem, a to su PAX9, STK33, GPR150, INSM1 i EPHX3.[32] Guerrero-Preston i sur. također su našli značajno metiliranje promotora gena PAX, ali PAX1 i PAX5, u snažnoj korelaciji s inaktivacijom tumor-supresorskih gena p53 i NOTCH1, kao i metiliranje promotora dodatnih 10 tumor-supresorskih gena (GABRB3, HOXC12, PARP15, SLCO4C1, CDKN2A, PAX1, PIK3AP1, HOXC6, PLCB1, i ZIC4), inaktiviranih u tumorima metiliranjem promotora i/ili mutacijom.[33] Vezano uz preživljenje, Paluszczak i sur. pronalaze da je metiliranje gena WIF-1, negativnog regulatora Wnt-puta, u korelaciji s kraćim preživljenjem bolesnika s tumorima usne šupljine i orofarinksa te ga smatraju mogućim prognostičkim biomarkerom.[34]

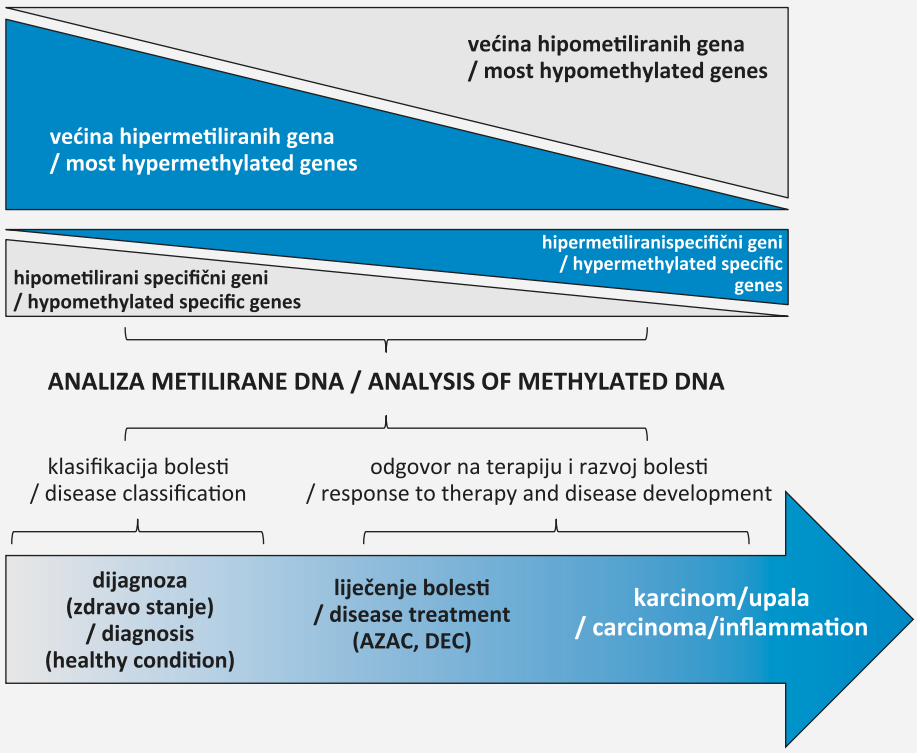
Misawa i sur. su proučavali neinvazivne biomarkere poput cirkulirajuće tumorske DNA (ctDNA) te su zaključili da ona može biti značajna u ranoj dijagnozi te poboljšati ishode bolesnika s tumorima glave i vrata.[35] Testovima s ctDNA pokazano je da metiliranje triju gena, CALML5, DNAJC5G i LY6D, ima visoku prediktivnu sposobnost kao novi biomarker u razlikovanju plazme oboljelih od zdravih osoba.[36] Isti autori su proučavali odnos između statusa metilacije gena za neuropeptidne receptore, GHSR i NMUR1, i recidiva tumora glave i vrata, poglavito tumora orofarinksa, te ustanovili da značajno metiliranje promotora ovih gena korelira s lošijim preživljenjem u kirurški liječenih bolesnika.[37] Ista grupa autora je analizirajući gene GPCR (G protein-vezani receptori) otkrila da su značajno povezani recidivi i visoka metiliranost gena PTGDR1, PTGDR2 i PTGIR u uzorcima tumora orofarinksa povezanim s HPV-om.[35] Također, dokazano je da se HPV-infekcija u ovim tumorima mogla neovisno predvidjeti preko povećane metiliranosti gena iz superfamilije imunoglobulina, IGSF4.[9]

Nadalje, metiliranje regija mikroRNA (miR) također se proučavalo kao mogući biomarker raka. Tako su Minor i sur. pronašli da su metiliranost miR-9-1 i miR-9-3 osjetljivi i specifični biomarkeri za tumore usne šupljine i orofarinksa.[38]

Znanstvenici koji su istraživali korelaciju između hipermetiliranosti DNA i odgovora na zračenje našli su značajnu korelaciju između visokih razina metiliranja promotorske DNA i boljeg odgovora na liječenje, a koristeći 10 diferencijalno-metiliranih gena između onih koji su reagirali i onih koji nisu reagirali na zračenje. Dodatno su potvrdili 8 od 10 gena biomarkera: ROBO1, ULK4P3, MYOD1, LBX1, CACNA1A, IRX4, DPYSL3 i ELAVL2.[39]

Jedna od recentnijih studija Langdona i sur. proučavala je povezanost DNA metiliranja, prognostičkih čimbenika i preživljenja bolesnika s tumorima orofarinksa. Kod tih je bolesnika dokazana povećana metiliranost CpG mjesta unutar gena vezanih uz pušenje (SPEG, GFI1, i PPT2) i konzumaciju alkohola (KHDC3L); povezanost pušenja sa smanjenim preživljenjem dokazana je samo u slučaju gena SPEG.[40]

Svakako, količina studija te podataka o promijenjenom metiliranju gena u tumorima glave i vrata jest velika, a ovdje su navedeni samo najvažniji i najočitiji primjeri promijenjenih metilacijskih profila u tumorima orofarinksa. Uzimajući u obzir različitu metodologiju i opsege studija od najranijih pa do danas, čini se da se u najviše njih pojavljuje gen CDH1 (kadherin 1),



Slika 1. Shematski prikaz statusa metilacije DNA u zdravom i bolesnom stanju. U zdravom stanju metiliranje je često u većini promotora staničnih gena, što rezultira odsutnošću ekspresije gena. U karcinomu, upalama i drugim stanjima neki se relevantni geni metiliraju, što za posljedicu ima utišanu funkciju. Sukladno tomu, promijenjeni metilacijski profili mogu ukazivati na bolesno tkivo, pružajući važne informacije prije liječenja. Epigenetički lijekovi, poput demetilacijskih agensa, inhibitora DNA metiltransferaza (DNMT), na primjer azacitidin (AZAC) i decitabin (DEC), mogu se koristiti za uspostavljanje ekspresije određenih gena. Hipermetilirani geni prikazani su u crnoj, a hipometilirani u sivoj boji.

Figure 1. Schematic representation of DNA methylation status in healthy and ill condition. In healthy condition, methylation occurs often on the most of cellular gene promoters, resulting in the absence of gene expression. In cancer, inflammation and other conditions, some relevant genes become methylated and as such, suppressed in their function. Accordingly, aberrant DNA methylation profiles can point to the diseased tissue, providing important information prior to treatment. Epigenetic drugs, such as demethylating agents (DNA methyltransferase (DNMT) inhibitors), for example azacytidine (AZAC) and decitabine (DEC), may be used to induce expression of the certain genes. Hypermethylated genes are presented in black, and hypomethylated in grey colour.

odnosno njegovo promijenjeno metiliranje u uzorcima tumora naspram uzoraka normala. Naime, gubitak ekspresije ovoga gena pridonosi napredovanju raka povećavajući proliferaciju, invaziju i/ili metastaziranje.

Metilacijski lijekovi

Kako je hipermetiliranje DNA reverzibilna promjena, micanje metilnih skupina, odnosno naknadno hipometiliranje vodi prema reaktivaciji genske transkripcije, odnosno očitovanju gena (slika 1). Stoga su takve epigenetičke promjene potencijalni mehanizam regulacije genske ekspresije na koji se može utjecati, a samim time i na bolest. Na tržištu već postoje demetilirajući lijekovi, analozi citozina, od kojih su trenutno u terapiji epigeničkog karcinoma najnapredniji 5-azacitozin (*azacitidine*, AZAC, 5-aza) i 2'-deoksi-5-azacitidin (*decitabine*, DEC). Ti spojevi djeluju kao inhibitori DNA metiltransferaza, a pokazali su se vrlo učinkovitim u reaktivaciji epigenetički utišanih gena te u suzbijanju tumora *in vitro*.[41] Konkretno, demetiliranje ovim lijekovima koristilo se u terapiji raka debelog crijeva, demetilirajući promotor gena za popravak DNA, hMLH1, što je rezultiralo vraćanjem funkcije ovoga gena te senzibiliziranjem tumorskih stanica na druge lijekove, kao što su cisplatina, karboplatina ili 5-fluorouracil.[16] Nadalje, 5-aza je u studiji Brieger i sur. doveo do ponovnog uspostavljanja ekspresije gena HIC1, koji djeluje kao regulator rasta i represije tumora, što je dovelo do smanjene agresivnosti stanica tumora glave i vrata.[42]

Nedavne studije su pokazale da su HPV-pozitivni tumori glave i vrata, odnosno orofarinksa, posebno

Tablica 2. Pregled literature: molekule miRNA povezane s tumorima orofarinksa pronađene u barem 2 studije
Table 2. Literature review: miRNA molecules associated with oropharyngeal tumours found in at least 2 studies

Autor/godina* / Author/year*	Tip tumora / Tumor type	Uzorci orofarinksa (ukupno tumora) / Oropharyngeal samples (total tumors)	Tip uzorka Type of sample	miRNA															Ostale Other	Izvor Source
				21	142	205	155	106b	146a	9	145	150	25	93	125b	15b	29c			
Hui 2010	TGV(OF,L,HF)	24 (51)	FFPE	↑	↑	↑	↑	↑					↑	↑	↓				10a, 16, 26a, 27a, 99a, 100, 130b, 143, 199b, 210, 7a/c	(60)
Summerer 2015	TGV(OF,L,HF)	6 (18)	FFPE i plazma / FFPE and plasma	↑	↑														28, 574	(61)
Lajer 2011	TGV(OF,O)	19 (49)	FFPE	↑			↑	↑	↑						↓				27b, 27a, 31, 99a, 375	(62)
Vojtechova 2016	OF	23	smrznuti i FFPE / frozen and FFPE	↑											↑				10a, 34a, 126, 335	(63)
Childs 2009	TGV(OF,O,L,HF)	32 (104)	smrznuti / frozen	↑		↓														(64)
Bozinovic 2019	TGV(OF,O)	10 (18)	smrznuti / frozen	↑				↑		↑	↓								29a, 100, 143	(53)
Jung 2012	TGV(OF,O)	7 (17)	smrznuti / frozen	↑						↑									196a, 486	(65)
Hui 2013	OF	88	FFPE	↑									↑						130b, 7f, 7g	(66)
Ko 2014	TGV(OF,O)	88 (167)	FFPE	↑																(67)
Zhang 2016	OF	43	smrznuti / frozen	↑															7c	(68)
Kalfert 2015	TGV(OF,L,HF)	23 (51)	FFPE	↑															34a, 375	(69)
Ganci 2017	TGV(OF,O,L,HF)	11 (132)	svježi / fresh	↑																(70)
Gao 2013	OF	150	FFPE		↓				↓										26b, 31, 193b	(71)
Wong 2016	TGV(OF,O,L)	82 (523)	TCGA i FFPE		↓				↓										26b, 193b, 455	(72)
Emmett 2021	TGV(OF,O,L,HF)	52 (280)	FFPE		↑	↑	↑		↑			↑				↑	↓		16, 20b, 29a, 363	(73)
Martinez 2015	TGV(OF,O)	6 (7)	serum			↑					↑	↓		↓					26a, 26b, 27b, 28, 100, 107, 148a, 183, 486, 7a/f	(74)
Brito 2016	TGV(OF,O)	12 (35)	FFPE			↑					↑								183, 200b, 7a	(75)
Hess 2017	TGV(OF,HF)	78 (149)	FFPE				↓		↓											(76)

Tablica 2. Nastavak
Table 2. Continued

Autor/godina* / Author/year*	Tip tumora / Tumor type	Uzorci orofarinksa (ukupno tumora) / Oropharyngeal samples (total tumors)	Tip uzorka Type of sample	miRNA														Ostale Other	Izvor Source
				21	142	205	155	106b	146a	9	145	150	25	93	125b	15b	29c		
Miller 2015	OF	53	FFPE					↑		↑	↓	↑	↑	↑		↑	↑	20b, 107, 126, 143, 148a, 193b, 199b, 222, 335, 363, 574	(77)
Wan 2017	TGV(OF,O,L,HF)	57 (101)	slina / saliva							↑								196a, 210, 222, 455	(78)
Ahmad 2019	TGV(OF,L,HF)	20 (51)	FFPE													↑			(79)
Mayne 2020	OF	40	serum									↓						27a, 574	(80)
Hess 2019	TGV(OF,O,HF)	75 (162)	FFPE															210, 7g	(81)

*Podebljanim slovima označene su studije koje su proučavale prognostičke biljege / Bold letters indicate studies that have investigated prognostic markers. TGV/HNT, tumori glave i vrata/head and neck tumors; OF, orofarinks/oropharynx; O, oralni/oral; L, larinks/larynx; HF, hipofarinks/hypopharynx; FFPE, formalinom fiksirano tkivo/Formalin-Fixed Paraffin-Embedded; ↑, povišenje/increase; ↓, smanjenje/decrease.

osjetljivi na 5-aza, djelomično zbog smanjenja ekspresije gena HPV-a, a djelomično zbog obnavljanja tumor-supresora p53 i pRB. Pokazano je da 5-aza djeluje na HPV-pozitivne tumore glave i vrata tako da inducira replikaciju i dvostruke lomove DNA vezane uz transkripciju, što se događa prvenstveno kod demetilirane DNA.[43] Također, pokazano je da terapija ovih tumora s 5-aza može biti učinkovita kao alternativna ili kao nadopuna standardnih citotoksičnih terapija.[44] Međutim, u slučajevima HPV-pozitivnih tumora potreban je dodatan oprez kod upotrebe demetilirajućih lijekova, budući da može doći do aktivacije virusa micanjem metilnih skupina s određenih mjesta u inaktiviranom virusnom genomu.[45]

Nekodirajuća mikroRNA

Od njihova otkrića ranih 90-ih godina prošlog stoljeća,[46] molekule mikroRNA (miRNA) bile su perspektivni kandidati za biljege različitih tumora, pa tako i za tumore glave i vrata.[47,48] Molekule miRNA su male nekodirajuće molekule RNA, svega 18–24 nukleotida duljine, koje se vežu na ciljne mRNA molekule i utječu na njihovu stabilnost te posljedično ekspresiju ciljnih gena.[49] Trenutno je u najvećoj bazi molekula miRNA (miRBase v22) opisano više od 38.589 različitih molekula miRNA iz 271 organizma, dok ih je za čovjeka opisano 2.654.[50] Poznato je kako su miRNA molekule uključene u brojne fiziološke procese, uključujući proliferaciju, rast i razvoj organizama, metabolizam, apoptozu te su promijenjene u brojnim bolestima i promjenama.[51] Nažalost, dugogodišnji optimizam i potraga za idealnim miRNA-biljezima još uvijek nije urodila čvrstim rezultatima[52,53] niti u jednom od proučavanih tipova tumora glave i vrata. Mogući čimbenici koji su utjecali na slabu podudarnost dosadašnjih rezultata sigurno su bile razlike u metodama izolacije i detekcije molekula miRNA, prisustvo izomiR-a (subvarijante iste molekule miRNA),[54] te u konačnici velika heterogenost tumora glave i vrata koji imaju svoje specifične profile.[55] Osim toga, heterogenosti doprinose i različiti tipovi analiziranih materijala (svježe tkivo, parafinski preparati [engl. FFPE, *Formalin-Fixed Paraffin-Embedded*], serum, slina). Budući da su molekule miRNA male, moguće ih je retrospektivno evaluirati i u parafinskim rezovima, što svakako olakšava pristup uzorcima. No, neki rezultati upućuju na to da, iako je tehnički izvedivo, postoji razmjerno malo slaganje u rezultatima dobivenim na različitom tipu tkiva te se tako samo 30–40% diferencijalno izraženih miRNA preklapa između svježih i parafinskih uzoraka istih pacijenata.[56]

Velika većina studija miRNA bila je fokusirana ili općenito na tumore glave i vrata u cjelini ili samo na pojedine subtipove, pa je relativno teško pronaći literaturu specifičnu za tumore orofarinksa,[57] iako je dosta

pažnje posvećeno HPV-pozitivnim tumorima.[58] Primjer podzastupljenosti područja orofarinksa svakako je nedavno objavljena sveobuhvatna metaanaliza prognostičkog značaja miRNA u tumorima glave i vrata koja je identificirala 116 radova, od kojih se 62 pretežno odnosilo na tumore usne šupljine, 19 na grkljan (larinks), 19 na nazofarinks, 2 na hipofarinks te 14 radova na miješanim lokacijama uključujući i orofarinks.[59]

U tablici 2 sažeti su trenutno dostupni rezultati s fokusom na područje orofarinksa. Pronađeno je trideset studija u kojima je bio barem dio uzoraka iz područja orofarinksa, dok je svega šest od njih bilo fokusirano isključivo na područje orofarinksa. Kako bi se smanjila kompleksnost, prikazane su samo miRNA koje su pronađene u barem dvjema od pronađenih studija, a u obzir su uzete samo studije s barem pet tumora orofarinksa. Kako je i prethodno spomenuto, uočeno je relativno slabo slaganje i preklapanje molekula miRNA impliciranih u razvoju tumora orofarinksa. Tako između 23 studije njih većina (12 studija) ukazuje na povišenje razine miR-21, dok su sljedeće najčešće implicirane bile miR-142 i miR-205 (u 5 studija). No, treba naglasiti da niti jedna od tih najčešćih miRNA nema u potpunosti konzistentne rezultate u pogledu smjera deregulacije u tumorima, osim miR-21.

Ekspresija miRNA 21 je učestalo poremećena u tumorima glave i vrata, ali i u drugim tipovima tumora. Uloga miR-21 nedavno je sažeta u preglednom radu Feng i Tsao.[82] Ukratko, ciljni geni miR-21 uključeni su u procese proliferacije i apoptoze, a bitna je i za regulaciju T-stanične imunosti. Povišena razina miR-21 značajka je razvoja mnogih solidnih tumora, kao što su gliom, rak dojke, rak debelog crijeva, rak nemalih stanica pluća te hematološki tumori. Posebno je zanimljiv prognostički značaj ove miRNA u tumorima općenito, ali i posebno u tumorima glave i vrata, što je dodatno potvrđeno nedavnom metaanalizom.[83]

MikroRNA 142 također je uključena u brojne važne procese poput staničnog rasta, diferencijacije, apoptoze, pa sve do embrionalnog razvoja i imunološkog odgovora.[84] Povezana je s raznim tumorima uključujući rak pluća, dojke, debelog crijeva, prostate, jajnika i vrata maternice, no, ovisno o kontekstu tumora, ili je utišana ili prekomjerno izražena.[85] Kao i za miR-21, postoje podatci o prediktivnoj vrijednosti ove miRNA u nekim tumorima. Za tumore glave i vrata ne postoje dokazi na razini metaanalize, no, postoje pojedinačne studije za neke subtipove tumora glave i vrata, gdje se ova miRNA pokazala kao potencijalni biljeg ishoda bolesti.[86,87]

Srednje učestale miRNA (miR-9, miR-106b, miR-145, miR-146a, miR-150, miR-155, miR-205; tablica 2) zastupljene u manjem broju studija također su dovoljno učestalo proučavane da svaka ima barem jedan zaseban pregledni rad posvećen toj miRNA u kontekstu raka.[88–94] Redovito, svaka od navedenih može djelovati ili kao onkogen ili kao tumor-supresor, ovisno o kontekstu pojedinih tumora. Stoga nije neobično što i radovi u kontekstu tumora orofarinksa ponekad pokazuju povećanje, a ponekad smanjenje ovih molekula miRNA. S druge strane, miR-9 i miR-106b pokazale su veliku konzistentnost rezultata iako u samo po četiri od 23 studije svaka. Zanimljivo je i podsjetiti kako je metiliranje genomskih regija miR-9 gore već bilo opisano kao relevantno za nastanak tumora orofarinksa.[38]

Unatoč velikoj heterogenosti materijala i metoda te analiziranim tipovima tumora glave i vrata, moguće je pronaći određeno preklapanje u rezultatima analiza molekula miRNA. Redovito su učestalo opažene miRNA bile interesantni biljezi i u drugim tipovima tumora, a za gotovo sve molekule miRNA moguće je pronaći i radove koji evaluiraju prognostički učinak. Ipak, u toj količini podataka, pa čak i ukoliko se analiza ograniči samo na tumore orofarinksa, teško je odrediti najbitnije miRNA molekule s uvjerljivo konzistentnim rezultatima. Najbliže tomu je svakako miRNA-21.

Zaključak

Tumori glave i vrata su sami po sebi vrlo kompleksna i heterogena skupina, a kada se uvede analiza genetičke i/ili epigenetičke komponente u nastanku ovih tumora, još se dodatno produbi problematika. Analiza epigenetičke komponente, najčešće metiliranja DNA i regulacije pomoću miRNA, zapravo je analiza fine regulacije ekspresije gena. Kako je i prikazano, ovo je područje u posljednje vrijeme veliko polje interesa znanstvenika, a rezultati istraživanja su vrlo različiti i sveobuhvatni. Budući da je to ujedno i polje identifikacije novih, potencijalnih biomarkera ovih bolesti te njihovih predstadija, potrebno je vrlo detaljno i sustavno pristupiti ovom problemu te iz velikog skupa podataka odabrati najbolje potencijalne epigenetičke biljege, genske biomarkere s promijenjenim metiliranjem i/ili najvažnije miRNA, koje značajno mijenjaju ekspresiju gena u bolesnom stanju. U ovom radu nastojali smo istaknuti najvažnije epigenetičke biljege u tumorima glave i vrata povezanim s HPV-om, poglavito tumorima orofarinksa.

Kratice

HPV, papilomavirus čovjeka (od engl. *human papillomavirus*); HNC (od engl. *head and neck cancer*); SCC (od engl. *squamous cell carcinoma*); E6/E7, rani protein 6/7 (od engl. *early protein* 6/7); E6AP, E6-povezani protein (od engl. E6-*associated protein*); FFPE, formalinom fiksirano tkivo (od engl. *Formalin-Fixed Paraffin-Embedded*); FDA (od engl. *Food and Drug Administration*); DNMT (od engl. DNA *methyltransferase*); AZAC (od engl. *azacitidine*); DEC (od engl. *de-*

citabine); TGV, tumori glave i vrata; OF, orofarinks; O, oralni; L, larinks; HF, hipofarinks.

Simboli

↑ – povišenje; ↓ – smanjenje.

Zahvala

Za financijsku potporu istraživačkih projekata autori zahvaljuju Hrvatskoj zakladi za znanost (projekt IP-2016-06-2246, voditelj VT; projekt IP-2013-11-4758, voditelj MG) te Međunarodnom centru za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju (ICGEB – *Early Career Return Grant*, projekt br. CRP/16/018, voditelj VT).

LITERATURA

1. *Grce M, Sabol I, Milutin-Gašperov N.* Genetika i epigenetika tumora glave i vrata. U: Prgomet D, ur. Tumori glave i vrata. Zagreb: Medicinska naklada; 2019; str. 8–20.
2. *Heyn H, Esteller M.* DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges. Nat Rev Genet. 2012;13:679–92.
3. *Herceg Z, Vaissière T.* Epigenetic mechanisms and cancer: An interface between the environment and the genome. Epigenetics. 2011;6:804–19.
4. *Castilho RM, Squarize CH, Almeida LO.* Epigenetic Modifications and Head and Neck Cancer: Implications for Tumor Progression and Resistance to Therapy. Int J Mol Sci. 2017; 18:1506.
5. *Fardi M, Solali S, Farshdousti Hagh M.* Epigenetic mechanisms as a new approach in cancer treatment: An updated review. Genes Dis. 2018;5:304–11.
6. *Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL.* Stem cells, cancer, and cancer stem cells. Nature. 2001;414:105–11.
7. *Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M i sur.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015;136(5):E359–86.
8. *Leemans CR, Braakhuis BJM, Brakenhoff RH.* The molecular biology of head and neck cancer. Nat Rev Cancer. 2011;11: 9–22.
9. *Chen KM, Stephen JK, Havard S, Mahan M, Divine G, Worsham MJ.* IGSF4 Methylation as an Independent Marker of Human Papillomavirus–Positive Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. JAMA Otolaryngol Neck Surg. 2015;141: 257–63.
10. *TCGA.* Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. Nature. 2015;517:576–82.
11. *Bieging KT, Mello SS, Attardi LD.* Unravelling mechanisms of p53-mediated tumour suppression. Nat Rev Cancer. 2014;14: 359–70.
12. *Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM.* The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. Cell. 1990;63:1129–36.
13. *Huh K, Zhou X, Hayakawa H, Cho JY, Libermann TA, Jin J i sur.* Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein associates with the cullin 2 ubiquitin ligase complex, which contributes to degradation of the retinoblastoma tumor suppressor. J Virol. 2007;81(18):9737–47.
14. *Grce M, Sabol I, Milutin Gašperov N.* The transforming properties of human papillomavirus oncoproteins. Period Biol. 2012;114:479–87.
15. *Lleras RA, Smith RV, Adrien LR, Schlecht NF, Burk RD, Harris TM i sur.* Unique DNA methylation loci distinguish anatomic site and HPV status in head and neck squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res. 2013;19(19):5444–55.
16. *Mansoori B, Mohammadi A, Davudian S, Shirjang S, Baradaran B.* The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review. Adv Pharm Bull. 2017;7:339–48.
17. *Arantes LMRB, de Carvalho AC, Melendez ME, Carvalho AL, Goloni-Bertollo EM.* Methylation as a biomarker for head and neck cancer. Oral Oncol. 2014;50:587–92.
18. *Feinberg AP, Vogelstein B.* Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. Nature. 1983;301:89–92.
19. *Kulis M, Esteller M.* DNA methylation and cancer. Adv Genet. 2010;70:27–56.
20. *Fardi M, Solali S, Farshdousti Hagh M.* Epigenetic mechanisms as a new approach in cancer treatment: An updated review. Genes Dis. 2018;5:304–11.
21. *Boscolo-Rizzo P, Da Mosto MC, Rampazzo E, Giunco S, Del Mistro A, Menegaldo A i sur.* Telomeres and telomerase in head and neck squamous cell carcinoma: from pathogenesis to clinical implications. Cancer Metastasis Rev. 2016;35(3): 457–74.
22. *Strzelczyk JK, Krakowczyk Ł, Owczarek AJ.* Aberrant DNA methylation of the *p16, APC, MGMT, TIMP3* and *CDH1* gene promoters in tumours and the surgical margins of patients with oral cavity cancer. J Cancer. 2018;9:1896–904.
23. *Wen G, Wang H, Zhong Z.* Associations of RASSF1A, RARβ, and CDH1 promoter hypermethylation with oral cancer risk: A PRISMA-compliant meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2018;97:e9971.
24. *Liu G.* CDH1 promoter methylation in patients with cervical carcinoma: a systematic meta-analysis with trial sequential analysis. Future Oncol. 2017;14:51–63.
25. *Morandi L, Gissi D, Tarsitano A, Asioli S, Monti V, Del Corso G i sur.* DNA methylation analysis by bisulfite next-generation sequencing for early detection of oral squamous cell carcinoma and high-grade squamous intraepithelial lesion from oral brushing. J Craniomaxillofac Surg. 2015;43(8): 1494–500.
26. *Marsit CJ, Christensen BC, Houseman EA, Karagas MR, Wrensch MR, Yeh RF i sur.* Epigenetic profiling reveals etiologically distinct patterns of DNA methylation in head and neck squamous cell carcinoma. Carcinogenesis. 2009;30 (3):416–22.
27. *Demokan S, Chang X, Chuang A, Mydlarz WK, Kaur J, Huang P i sur.* KIF1A and EDNRB are differentially methylated in primary HNSCC and salivary rinses. Int J Cancer. 2010;127 (10):2351–9.
28. *Al-Kaabi A, van Bockel LW, Pothen AJ, Willems SM.* p16INK4A and p14ARF gene promoter hypermethylation as prognostic biomarker in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a review. Dis Markers. 2014;2014:260549.
29. *Melchers LJ, Clausen MJ, Mastik MF, Slagter-Menkema L, van der Wal JE, Wisman GB i sur.* Identification of methylation markers for the prediction of nodal metastasis in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Epigenetics. 2015; 10(9):850–60.
30. *Mielcarek-Kuchta D, Paluszczak J, Seget M, Kiwerska K, Biczysko W, Szyfter K i sur.* Prognostic factors in oral and oropharyngeal cancer based on ultrastructural analysis and DNA methylation of the tumor and surgical margin. Tumour Biol. 2014;35(8):7441–9.

31. *Milutin Gašperov N, Sabol I, Božinović K, Dediol E, Mravak-Stipetić M, Licastro D i sur.* DNA Methylome Distinguishes Head and Neck Cancer from Potentially Malignant Oral Lesions and Healthy Oral Mucosa. Int J Mol Sci. 2020;21 (18):6853.
32. *Bai G, Song J, Yuan Y, Chen Z, Tian Y, Yin X i sur.* Systematic analysis of differentially methylated expressed genes and site-specific methylation as potential prognostic markers in head and neck cancer. J Cell Physiol. 2019;234(12):22687–702.
33. *Guerrero-Preston R, Michailidi C, Marchionni L, Pickering CR, Frederick MJ, Myers JN i sur.* Key tumor suppressor genes inactivated by "greater promoter" methylation and somatic mutations in head and neck cancer. Epigenetics. 2014;9(7): 1031–46.
34. *Paluszczak J, Sarbak J, Kostrzewska-Poczekaj M, Kiwerska K, Jarmuż-Szymczak M, Grenman R i sur.* The negative regulators of Wnt pathway-DACH1, DKK1, and WIF1 are methylated in oral and oropharyngeal cancer and WIF1 methylation predicts shorter survival. Tumour Biol. 2015;36(4):2855–61.
35. *Misawa K, Imai A, Kanazawa T, Mima M, Yamada S, Mochizuki D i sur.* G Protein-Coupled Receptor Genes, PTGDR1, PTGDR2, and PTGIR, Are Candidate Epigenetic Biomarkers and Predictors for Treated Patients with HPV-Associated Oropharyngeal Cancer. Microorganisms. 2020;8(10):1504.
36. *Misawa K, Imai A, Matsui H, Kanai A, Misawa Y, Mochizuki D i sur.* Identification of novel methylation markers in HPV-associated oropharyngeal cancer: genome-wide discovery, tissue verification and validation testing in ctDNA. Oncogene. 2020;39(24):4741–55.
37. *Misawa K, Mima M, Satoshi Y, Misawa Y, Imai A, Mochizuki D i sur.* Neuropeptide receptor genes GHSR and NMUR1 are candidate epigenetic biomarkers and predictors for surgically treated patients with oropharyngeal cancer. Sci Rep. 2020;10 (1):1007.
38. *Minor J, Wang X, Zhang F, Song J, Jimeno A, Wang XJ i sur.* Methylation of microRNA-9 is a specific and sensitive biomarker for oral and oropharyngeal squamous cell carcinomas. Oral Oncol. 2012;48(1):73–8.
39. *Kurokawa T, Nakagawa T, Matsusaka K, Fukuyo M, Mima M, Misawa K i sur.* Establishment of epigenetic markers to predict irradiation efficacy against oropharyngeal cancer. Cancer Sci. 2020;111(4):1407–16.
40. *Langdon R, Richmond R, Elliott HR, Dudding T, Kazmi N, Penfold C i sur.* Identifying epigenetic biomarkers of established prognostic factors and survival in a clinical cohort of individuals with oropharyngeal cancer. Clin Epigenetics. 2020;12(1):95.
41. *Stresemann C, Lyko F.* Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine. Int J Cancer. 2008;123:8–13.
42. *Brieger J, Pongsapich W, Mann SA, Hedrich J, Fruth K, Pogozelski B i sur.* Demethylation treatment restores hic1 expression and impairs aggressiveness of head and neck squamous cell carcinoma. Oral Oncol. 2010;46(9):678–83.
43. *Hajek M, Biktasova A, Sewell A, Gary C, Cantalupo P, Anderson KS i sur.* Global Genome Demethylation Causes Transcription-Associated DNA Double Strand Breaks in HPV-Associated Head and Neck Cancer Cells. Cancers (Basel). 2020;13(1):21.
44. *Biktasova A, Hajek M, Sewell A, Gary C, Bellinger G, Deshpande HA i sur.* Demethylation Therapy as a Targeted Treatment for Human Papillomavirus-Associated Head and Neck Cancer. Clin Cancer Res. 2017;23(23):7276–87.
45. *Milutin Gašperov N, Sabol I, Planinić P, Grubišić G, Fistonić I, Ćorušić A i sur.* Methylated Host Cell Gene Promoters and Human Papillomavirus Type 16 and 18 Predicting Cervical Lesions and Cancer. PLoS One. 2015;10(6):e0129452.
46. *Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V.* The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell. 1993;75:843–54.
47. *Kent OA, Mendell JT.* A small piece in the cancer puzzle: microRNAs as tumor suppressors and oncogenes. Oncogene. 2006;25:6188–96.
48. *Tran N, O'Brien CJ, Clark J, Rose B.* Potential role of microRNAs in head and neck tumorigenesis. Head Neck. 2010; 32:1099–111.
49. *Bartel DP.* MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. Cell. 2004;116:281–97.
50. *Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S.* miRBase: from microRNA sequences to function. Nucleic Acids Res. 2019; 47:D155–62.
51. *Huang Y, Shen XJ, Zou Q, Wang SP, Tang SM, Zhang GZ.* Biological functions of microRNAs: a review. J Physiol Biochem. 2011;67:129–39.
52. *Kaczkowski B.* A Decade of Global mRNA and miRNA Profiling of HPV-Positive Cell Lines and Clinical Specimens. Open Virol J. 2012;6:216–31.
53. *Božinović K, Sabol I, Dediol E, Milutin Gašperov N, Manojlović S, Vojtechova Z i sur.* Genome-wide miRNA profiling reinforces the importance of miR-9 in human papillomavirus associated oral and oropharyngeal head and neck cancer. Sci Rep. 2019;9(1):2306.
54. *Cloonan N, Wani S, Xu Q, Gu J, Lea K, Heater S i sur.* MicroRNAs and their isomiRs function cooperatively to target common biological pathways. Genome Biol. 2011;12(12):R126.
55. *Chamorro Petronacci CM, García García A, Padín Iruegas E, Rivas Mundiña B, Lorenzo Pouso AI, Pérez Sayáns M.* Identification of Prognosis Associated microRNAs in HNSCC Subtypes Based on TCGA Dataset. Med Kaunas Lith. 2020;56:535.
56. *Vojtechova Z, Zavadil J, Klozar J, Grega M, Tachezy R.* Comparison of the miRNA expression profiles in fresh frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tonsillar tumors. PLOS ONE. 2017;12:e0179645.
57. *Ghafouri-Fard S, Gholipour M, Taheri M, Shirvani Farsani Z.* MicroRNA profile in the squamous cell carcinoma: prognostic and diagnostic roles. Heliyon. 2020;6:e05436.
58. *Emmett S, Whiteman DC, Panizza BJ, Antonsson A.* An Update on Cellular MicroRNA Expression in Human Papillomavirus-Associated Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. Oncology. 2018;95:193–201.
59. *Lubov J, Maschietto M, Ibrahim I, Mlynarek A, Hier M, Kowalski LP i sur.* Meta-analysis of microRNAs expression in head and neck cancer: uncovering association with outcome and mechanisms. Oncotarget. 2017;8(33):55511–24.
60. *Hui AB, Lenarduzzi M, Krushel T, Waldron L, Pintilie M, Shi W i sur.* Comprehensive MicroRNA profiling for head and neck squamous cell carcinomas. Clin Cancer Res. 2010;16 (4):1129–39.
61. *Summerer I, Unger K, Braselmann H, Schuettrumpf L, Maihoefer C, Baumeister P i sur.* Circulating microRNAs as prognostic therapy biomarkers in head and neck cancer patients. Br J Cancer. 2015;113(1):76–82.
62. *Lajer CB, Nielsen FC, Friis-Hansen L, Norrild B, Borup R, Garnæs E i sur.* Different miRNA signatures of oral and pharyn-

geal squamous cell carcinomas: a prospective translational study. Br J Cancer. 2011;104(5):830–40.

63. *Vojtechova Z, Sabol I, Salakova M, Smahelova J, Zavadil J, Turek L i sur.* Comparison of the miRNA profiles in HPV-positive and HPV-negative tonsillar tumors and a model system of human keratinocyte clones. BMC Cancer. 2016;16:382.
64. *Childs G, Fazzari M, Kung G, Kawachi N, Brandwein-Gensler M, McLemore M i sur.* Low-level expression of microRNAs let-7d and miR-205 are prognostic markers of head and neck squamous cell carcinoma. Am J Pathol. 2009;174(3):736–45.
65. *Jung HM, Phillips BL, Patel RS, Cohen DM, Jakymiw A, Kong WW i sur.* Keratinization-associated miR-7 and miR-21 regulate tumor suppressor reversion-inducing cysteine-rich protein with kazal motifs (RECK) in oral cancer. J Biol Chem. 2012;287(35):29261–72.
66. *Hui AB, Lin A, Xu W, Waldron L, Perez-Ordonez B, Weinreb I i sur.* Potentially prognostic miRNAs in HPV-associated oropharyngeal carcinoma. Clin Cancer Res. 2013;19(8):2154–62.
67. *Ko YH, Won HS, Sun DS, An HJ, Jeon EK, Kim MS i sur.* Human papillomavirus-stratified analysis of the prognostic role of miR-21 in oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. Pathol Int. 2014;64(10):499–507.
68. *Zhang X, Gee H, Rose B, Lee CS, Clark J, Elliott M i sur.* Regulation of the tumour suppressor PDCD4 by miR-499 and miR-21 in oropharyngeal cancers. BMC Cancer. 2016;16:86.
69. *Kalfert D, Pesta M, Kulda V, Topolcan O, Ryska A, Celakovsky P i sur.* MicroRNA profile in site-specific head and neck squamous cell cancer. Anticancer Res. 2015;35(4):2455–63.
70. *Ganci F, Sacconi A, Manciocco V, Sperduti I, Battaglia P, Covello R i sur.* MicroRNA expression as predictor of local recurrence risk in oral squamous cell carcinoma. Head Neck. 2016; 38 Suppl 1:E189–97.
71. *Gao G, Gay HA, Chernock RD, Zhang TR, Luo J, Thorstad WL i sur.* A microRNA expression signature for the prognosis of oropharyngeal squamous cell carcinoma. Cancer. 2013;119 (1):72–80.
72. *Wong N, Khwaja SS, Baker CM, Gay HA, Thorstad WL, Daly MD i sur.* Prognostic microRNA signatures derived from The Cancer Genome Atlas for head and neck squamous cell carcinomas. Cancer Med. 2016;5(7):1619–28.
73. *Emmett SE, Stark MS, Pandeya N, Panizza B, Whiteman DC, Antonsson A.* MicroRNA expression is associated with human papillomavirus status and prognosis in mucosal head and neck squamous cell carcinomas. Oral Oncol. 2021;113:105136.
74. *Victoria Martinez B, Dhahbi JM, Nunez Lopez YO, Lamperska K, Golusinski P, Luczewski L i sur.* Circulating small non-coding RNA signature in head and neck squamous cell carcinoma. Oncotarget. 2015;6(22):19246–63.
75. *Brito BL, Lourenço SV, Damascena AS, Kowalski LP, Soares FA, Coutinho-Camillo CM.* Expression of stem cell-regulating miRNAs in oral cavity and oropharynx squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med. 2016;45(9):647–54.
76. *Hess J.* Predictive Factors for Outcome and Quality of Life in HPV-Positive and HPV-Negative HNSCC. Recent Results Cancer Res. 2017;206:233–42.
77. *Miller DL, Davis JW, Taylor KH, Johnson J, Shi Z, Williams R i sur.* Identification of a human papillomavirus-associated oncogenic miRNA panel in human oropharyngeal squamous cell carcinoma validated by bioinformatics analysis of the Cancer Genome Atlas. Am J Pathol. 2015;185(3):679–92.
78. *Wan Y, Vagenas D, Salazar C, Kenny L, Perry C, Calvopiña D i sur.* Salivary miRNA panel to detect HPV-positive and HPV-negative head and neck cancer patients. Oncotarget. 2017;8 (59):99990-100001.
79. *Ahmad P, Sana J, Slavik M, Gurin D, Radova L, Gablo NA i sur.* MicroRNA-15b-5p predicts locoregional relapse in head and neck carcinoma patients treated with intensity-modulated radiotherapy. Cancer Genomics Proteomics. 2019;16 (2):139–46.
80. *Mayne GC, Woods CM, Dharmawardana N, Wang T, Krishnan S, Hodge JC i sur.* Cross validated serum small extracellular vesicle microRNAs for the detection of oropharyngeal squamous cell carcinoma. J Transl Med. 2020;18(1):280.
81. *Hess J, Unger K, Maihoefer C, Schüttrumpf L, Wintergerst L, Heider T i sur.* A five-microRNA signature predicts survival and disease control of patients with head and neck cancer negative for HPV infection. Clin Cancer Res. 2019;25(5): 1505–16.
82. *Feng Y-H, Tsao C-J.* Emerging role of microRNA-21 in cancer (Review). Biomed Rep. 2016;5:395–402.
83. *Irimie-Aghiorghiesei AI, Pop-Bica C, Pintea S, Braicu C, Cojocneanu R, Zimța AA i sur.* Prognostic Value of MiR-21: An Updated Meta-Analysis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC). J Clin Med. 2019;8(12):2041.
84. *Shrestha A, Mukhametshina RT, Taghizadeh S, Vásquez-Pacheco E, Cabrera-Fuentes H, Rizvanov A i sur.* MicroRNA-142 is a multifaceted regulator in organogenesis, homeostasis, and disease. Dev Dyn. 2017;246(4):285–90.
85. *Pahlavan Y, Mohammadi Nasr M, Dalir Abdolahinia E, Pirdel Z, Razi Soofiyani S, Siahposh S i sur.* Prominent roles of microRNA-142 in cancer. Pathol Res Pract. 2020;216(11):153220.
86. *Summerer I, Unger K, Braselmann H, Schuettrumpf L, Maihoefer C, Baumeister P i sur.* Circulating microRNAs as prognostic therapy biomarkers in head and neck cancer patients. Br J Cancer. 2015;113(1):76–82.
87. *Takeuchi T, Kawasaki H, Luce A, Cossu AM, Misso G, Scrima M i sur.* Insight toward the MicroRNA Profiling of Laryngeal Cancers: Biological Role and Clinical Impact. Int J Mol Sci. 2020;21(10):3693.
88. *Qin AY, Zhang XW, Liu L, Yu JP, Li H, Wang SZ i sur.* MiR-205 in cancer: an angel or a devil? Eur J Cell Biol. 2013;92(2): 54–60.
89. *Gulei D, Raduly L, Broseghini E, Ferracin M, Berindan-Neagoe I.* The extensive role of miR-155 in malignant and non-malignant diseases. Mol Aspects Med. 2019;70:33–56.
90. *Lerner C, Wemmert S, Bochen F, Kulas P, Linxweiler M, Hasenfus A i sur.* Characterization of miR-146a and miR-155 in blood, tissue and cell lines of head and neck squamous cell carcinoma patients and their impact on cell proliferation and migration. J Cancer Res Clin Oncol. 2016;142(4):757–66.
91. *Khafaei M, Rezaie E, Mohammadi A, Shahnazi Gerdehsang P, Ghavidel S, Kadkhoda S i sur.* miR-9: From function to therapeutic potential in cancer. J Cell Physiol. 2019 Jan 28.
92. *Kolenda T, Guglas K, Teresiak A, Bliźniak R, Lamperska K.* Low let-7d and high miR-205 expression levels positively influence HNSCC patient outcome. J Biomed Sci. 2019;26:17.
93. *Yang C, Dou R, Yin T, Ding J.* MiRNA-106b-5p in human cancers: diverse functions and promising biomarker. Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother. 2020;127:110211.
94. *Sawant D, Lilly B.* MicroRNA-145 targets in cancer and the cardiovascular system: evidence for common signaling pathways. Vasc Biol Bristol Engl. 2020;2:R115–28.

Liječ Vjesn 2022;144:106–111
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-7

Pregled | Review

Onkogeneza povezana s HPV-om u tumorima glave i vrata

HPV-associated oncogenesis in head and neck cancer

Vjekoslav Tomaić[1]✉, Nina Milutin Gašperov[1], Ivan Sabol[1], Magdalena Grce[1]✉

[1] Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, Zagreb

Deskriptori
HUMANI PAPILOMAVIRUS – fiziologija, genetika, klasifikacija; KARCINOM PLOČASTIH STANICA GLAVE I VRATA – epidemiologija, virologija; TUMORI VRATA MATERNICE – epidemiologija,virologija; HUMANI PAPILOMAVIRUS 16 – genetika, patogenost; KARCINOGENEZA – genetika; VIRUSNI ONKOPROTEINI – genetika, metabolizam; PAPILOMAVIRUSNI ONKOPROTEINI E7 - genetika, metabolizam; TUMOR SUPRESORSKI PROTEIN P53; PROTEIN RETINOBLASTOMA; VIRUSNI GENOM

SAŽETAK. Više od 200 papilomavirusa čovjeka (HPV) inficira stanice ljudskog epitela, od kojih su alfa i beta tipovi najopsežnije proučavani i analizirani. Alfa-tipovi HPV-a primarno inficiraju epitel sluznice, a samo manji njihov dio povezan je s više od 600.000 karcinoma godišnje širom svijeta na različitim anatomskim mjestima, posebno anogenitalnim i regijama glave i vrata. Najvažniji karcinom uzrokovan alfa-tipovima HPV-a jest rak vrata maternice, koji je vodeći uzrok smrti povezane s rakom kod žena u mnogim dijelovima svijeta. HPV kodiraju dva onkoproteina, E6 i E7, koji izravno sudjeluju u razvoju malignosti povezanih s HPV-om. Oni djeluju u sinergiji, ciljajući različite stanične puteve koji su uključeni u regulaciju kontrole staničnog ciklusa, apoptoze i polariteta stanica. U ovom su pregledu istaknute biološke posljedice papilomavirusa koji djeluju na različite stanične proteine na različitim anatomskim mjestima u razvoju malignih tumora izazvanih HPV-om, s naglaskom na tumore glave i vrata.

Descriptors
ALPHAPAPILLOMAVIRUS – classification, genetics, physiology; SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF HEAD AND NECK – epidemiology, virology; UTERINE CERVICAL NEOPLASMS – epidemiology, virology; HUMAN PAPILLOMAVIRUS 16 – genetics, pathogenicity; CARCINOGENESIS – genetics; ONCOGENE PROTEINS, VIRAL – genetics, metabolism; PAPILLOMAVIRUS E7 PROTEINS – genetics, metabolism; TUMOR SUPPRESSOR PROTEIN P53; RETINOBLASTOMA PROTEIN; GENOME, VIRAL

SUMMARY. More than 200 human papillomaviruses (HPVs) infect human epithelial cells, and out of them alpha and beta types have been the most extensively investigated and analysed. Alpha HPVs primarily infect mucosal epithelia and only a small proportion of them is associated with more than 600,000 cancers per year worldwide at various anatomical sites, especially anogenital and head-and-neck region. Of these the central disease is cervical cancer, which is the leading cause of cancer-related deaths in women in numerous parts of the world. HPVs encode two oncoproteins, E6 and E7, which are directly involved in the development of HPV-mediated malignancies. They do this in cooperation by targeting various cellular pathways involved in the regulation of cell cycle control, of apoptosis and of cell polarity control networks. In this review, the biological consequences of HPV manipulating of various cellular proteins at diverse anatomical sites in the development of HPV-induced carcinogenesis are depicted, with focus on head and neck cancer.

Perzistentna infekcija papilomavirusima čovjeka (engl. HPV, *human papillomavirus*) glavni je čimbenik rizika u razvoju brojnih zloćudnih bolesti na različitim anatomskim mjestima[1,2]: karcinom skvamoznih stanica vrata maternice, rodnice, vulve, penisa, anusa, rektuma i orofarinksa (tablica 1). Među njima se najviše ističe rak vrata maternice koji pogađa žene, uglavnom u zemljama u razvoju, i uzrokuje više od 570.000 karcinoma godišnje.[1]

Iako je poznato da oko 200 vrsta HPV-a inficira ljude, samo je mali dio njih povezan s razvojem raka.[3] Papilomavirusi čine heterogenu skupinu virusa, koja je svrstana u porodicu *Papillomaviridae*.[2] Tipovi HPV-a klasificirani su u pet rodova: alfa (α), beta (β), gama (γ), mu (μ) i nu (ν), a rodovi α i β najintenzivnije su istraženi.[4] Skupina α-papilomavirusa sadrži tipove koji inficiraju epitele sluznice i koji su podijeljeni u tipove niskog rizika (engl. LR, *low risk*) i visokog rizika (engl. HR, *high risk*), na temelju njihove sposobnosti da uzrokuju rak. Infekcije LR tipovima HPV-a, od kojih su najčešći HPV-6 i HPV-11, rezultiraju benignim lezijama, dok su infekcije HR tipovima HPV-a povezane sa zloćudnim bolestima anogenitalnog područja te regije glave i vrata. Od njih, HPV-16 i HPV-18 uzrokuju približno 80% slučajeva raka vrata maternice u svijetu, dok je preostalih 20% pretežno povezano s drugim HR tipovima HPV-a, kao što su HPV-31, HPV-33, HPV-45, HPV-52 i HPV-58 [2,3] (tablica 2). HPV-16 i HPV-18 su odgovorni za gotovo sve karcinome koji se mogu pripisati HPV-u u muškaraca. Zanimljivo je da je kod HPV-pozitivnih karcinoma glave i vrata, koji prvenstveno zahvaćaju orofarinks i javljaju se u tonzilama i na bazi jezika, HPV-16 najzastupljeniji, dok se ostali HR tipovi HPV-a rijetko otkrivaju.[5,6] Osim toga, HR HPV-pozitivni karcinomi tumora glave i vrata imaju bolju prognozu i preživljenje[7,8], zbog čega je utvrđivanje prisutnosti HPV-a iznimno važno za daljnje praćenje i liječenje oboljelih na ovom anatomskom sijelu.[9]

Virusni životni ciklus

Papilomavirusi su mali DNA virusi bez ovojnice, ikosaedarske simetrije.[19] Njihova je DNA dvolančana, kružna i superuvijena, veličine oko 7.900 parova baza

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Doc. dr. sc. Vjekoslav Tomaić, dr. med. https://orcid.org/0000-0002-5237-2215
i dr. sc. Magdalena Grce, dr. med. https://orcid.org/0000-0001-6178-8418
Zavod za molekularnu medicinu, Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, Zagreb,
e-pošta: tomaic@irb.hr; grce@irb.hr

Primljeno 26. ožujka 2021., prihvaćeno 25. listopada 2021.

Tablica 1. Godišnje globalno opterećenje rakom povezanim s HPV-om prema bazi podataka Globocan[1]
Table 1. Global burden of HPV-associated cancers per year according to GLOBOCAN 2018 database[1]

Anatomsko sijelo karcinoma / Anatomical site of cancer	Prosječni broj karcinoma godišnje kod žena / Average number of cancers in women per year	Prosječni broj karcinoma godišnje kod muškaraca / Average number of cancers in men per year	Ukupno / Total	Procijenjeni broj koji vjerojatno uzrokuje HR HPV / Estimated number to be probably caused by HR HPV
Cerviks (vrat maternice) / Cervix	570.000	–	570.000	570.000
Vagina (rodnica) / Vagina	18.000	–	18.000	14.000
Vulva (stidnica) / Vulva	44.000	–	44.000	11.000
Penis / Penis	–	34.000	34.000	18.000
Anus /Anus	19.000	9.900	29.000	29.000
Usna šupljina / Oral cavity	91.000	190.000	280.000	5.900
Orofarinks / Oropharynx	26.000	110.000	140.000	42.000
Larinks / Larynx	22.000	150.000	180.000	4.100
Ukupno / Total	790.000	493.900	1.295.000	694.000

Tablica 2. Doprinos HR tipova HPV-a u razvoju karcinoma raznih sijela
Table 2. Contribution of HR HPV-types in carcinoma at different sites

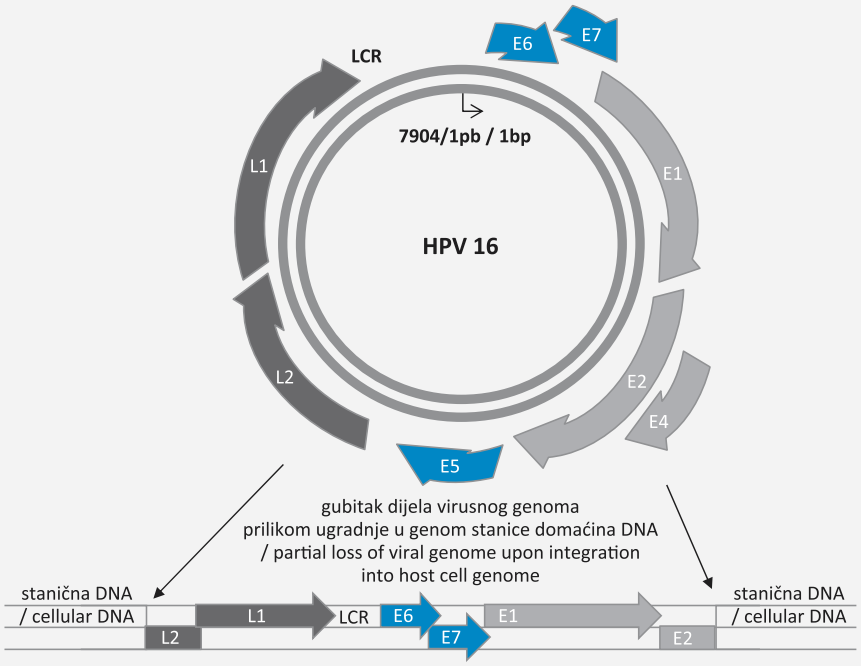
Anatomsko sijelo karcinoma / Anatomical site of cancer	HR HPV	HPV-16	HPV-18	Izvor / Source**
Cerviks (vrat maternice) / Cervix	~ 92% (85%; 99,7%)	61%	10%	de Sanjose i sur. 2010; Muñoz 2000 (10,11)
Vagina (rodnica) / Vagina	~ 74,6% (74,3%; 75%)	58,7%	5%	Serrano i sur. 2015; Alemany i sur. 2014 (12,13)
Vulva (stidnica) / Vulva	~ 31,3% (28,6%; 34%)	68%	4,6%	Serrano i sur. 2015; Zhang i sur. 2018 (12,14)
Penis / Penis	~ 40% (46,7%; 33,1%)	~ 64,5% (60,2%; 68,7%)	13,4%	Hartwig i sur. 2012; Alemany i sur. 2014 (13,15)
Anus/ Anus*	~ 87,0% (M 84,2%, Ž 90%)	~ 85,0% (M 87,1%; Ž 83.4%)	~ 5% (M 6,2%; Ž 3,6%)	Hartwig i sur. 2012; Serrano i sur. 2015 (12,15)
Usna šupljina / Oral cavity	~ 24% (23,5%; 24,4%)	68,2%	34,1%	Kreimer i sur. 2005; Yete i sur. 2018 (16,17)
Orofarinks / Oropharynx	~ 52,9%	93,1%	1,3%	Stein i sur. 2015 (15)
Larinks/ Larynx	24%	69,2%	17%	Kreimer i sur. 2005 (16)

*M, muškarci / men; Ž, žene / women; **i sur. / et al.

(slika 1). Obavijena je kapsidom koja se sastoji od dvaju strukturnih proteina; glavni protein kapside L1 (55.000 daltona) čini 80% kapside, a protein L2 (70.000 daltona) ostatak. Promjer viriona je 52–55 nm. Protein E1 neophodan je za episomalnu replikaciju virusne DNA, a protein E2 regulira transkripciju i replikaciju virusne DNA. Kod HPV-16 i HPV-18 protein E2 kontrolira aktivnost promotora za transkripciju gena E6 i E7. Produkti gena E6 i E7 glavni su transformirajući proteini HR HPV-a.[20] Protein E4 ima ulogu u destabilizaciji citokeratinske mreže te u kasnijem dijelu ciklusa pomaže u oslobađanju viriona iz stanice. Onkoprotein E5 se nalazi u staničnoj membrani i pomaže u prijenosu signala za čimbenike rasta.[21]

Virusna DNA HR HPV-a često se ugrađuje u genom domaćina (slika 1). Ugradnja u genom domaćina jest nasumična, ali često u blizini uobičajenih lomljivih mjesta (*common fragile sites*) genoma,[22] pa se u nekim slučajevima virusna DNA ugrađuje unutar staničnih gena ili u blizini staničnih onkogena (npr. c-*myc*).[23] U dobroćudnim oštećenjima vezanima s HPV-infekcijama virusni genom postoji isključivo kao autonomno replicirajući episom. Najčešće se ugrađuju tipovi HPV-a 16, 18 i 45, iako ne uvijek.[24] Tipovi HPV-a 31 i 33 ne ugrađuju se gotovo uopće u genom domaćina, iako su vrlo učestali u raku vrata maternice.[25] Prilikom ugradnje virusne DNA HR HPV-a najčešće dolazi do loma unutar gena E1 i E2, čime se remeti aktivnost tih gena, a posljedica ugradnje je povišena i nekontrolirana ekspresija virusnih onkogena E6 i E7.[26]

HR tipovi HPV-a inficiraju epitel sluznice i vjeruje se da virus ulazi kroz mikroоštećenja i inficira bazalne stanice epitela (slika 2). Životni ciklus virusa strogo ovisi o staničnoj diferencijaciji keratinocita, glavnih



Slika 1. Shematski prikaz genoma HPV-16 u episomalnom (kružnom) i ugrađenom obliku (linearnom) dvolančane DNA veličine 7904 pb (parova baza). Genom HPV-a se sastoji od regulatorne i nekodirajuće regije LCR (engl. *locus control region*) te kodirajućih ranih E (engl. *early*) i kasnih L (engl. *late*) gena. Geni E1, E2 i E4 važni su za virusnu replikaciju, transkripciju i sazrijevanje virusa. Transkripti glavnih onkogena E6 i E7 te potencijalnog onkogena E5 odgovorni su za transformaciju i imortalizaciju stanice domaćina. Geni L1 i L2 prepisuju se u kapsidne proteine virusne čestice (virion) i odgovorni su za pravilno pakiranje DNA i virusno umatanje.

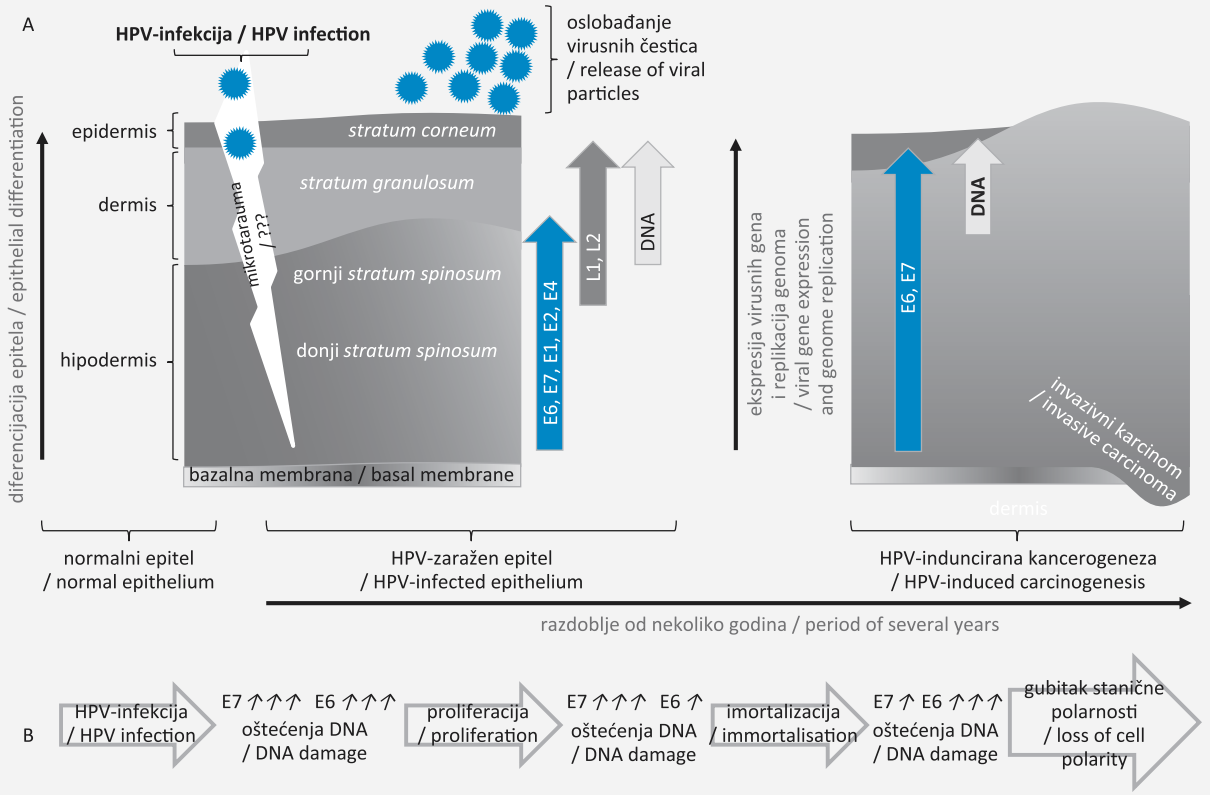
Figure 1. Schematic representation of the HPV 16 genome in the episomal (circular) and integrated (linear) double stranded DNA forms of 7904 bp (base pairs). The HPV genome consists of the non-coding region LCR (locus control region) and the coding region of early (E) and late (L) genes. Genes E1, E2 and E4 are important for viral replication, transcription and viral maturation. Transcripts of the major oncogenes E6 and E7 and the potential oncogene E5 are responsible for transformation and immortalization of host cells. The L1 and L2 genes are translated into viral capsid proteins and are responsible for proper DNA packaging and viral encapsidation.

ciljnih stanica virusa. Virus nema vlastiti replikacijski mehanizam i stoga ovisi o staničnoj diobi i raslojavanju epitela domaćina, koji se odvija od bazalnih slojeva prema suprabazalnim slojevima, iskorištavajući ovaj proces za replikaciju i stvaranje novih virusa. U ovom procesu onkoproteini E6 i E7 igraju presudnu ulogu. Naime, E6 uz pomoć stanične ubikvitin-ligaze E6AP veže i razgrađuje p53,[27] dok onkoprotein E7 veže i razgrađuje pRB uz pomoć ubikvitin-ligaze Cullin-2 kompleksa.[28] Osim p53 i pRB, virusni onkoproteini dereguliraju i rad drugih bitnih staničnih proteina. Neki od najpoznatijih staničnih metaonkoproteina E6 uključuju Bak, DLG1, SCRIBBLE, obitelj MAGI proteina, prokaspaza 8 i FADD,[20,29,30] dok neke od najbitnijih staničnih metaonkoproteina E7 čine p107, p130 i PTPN14.[20,30] Kroz interakcije s ovim staničnim supstratima zajedničko djelovanje ovih dvaju onkoproteina, usmjereno na različite stanične puteve uključene u regulaciju kontrole staničnog ciklusa i apoptoze, omogućuje virusu da održava proliferaciju stanica u visokodiferenciranim suprabazalnim regijama, a time i replikaciju virusnog genoma.[19,31]

Uloga E6 i E7 u patogenezi

Normalni produktivni virusni životni ciklus HR tipova HPV-a visoko je reguliran i koordiniran proces. Međutim, u nekim slučajevima, uglavnom tijekom trajne infekcije, virusna se DNA nasumično ugrađuje u genom domaćina (slika 1), što dovodi do stanične imortalizacije i na kraju do maligne progresije. Ishod ovog procesa je kolaps virusne replikativne sposobnosti: većina virusnih gena se gubi, dok dva glavna virusna onkogena, E6 i E7, ostaju nekontrolirano izraženi (slika 2), pokrećući stanične cikluse, daljnji napredak prema staničnoj transformaciji i na kraju rezultirajući razvojem raka.[32,33] Zanimljivo je da se proces virusne ugradnje događa mnogo rjeđe kod orofaringealnih karcinoma nego kod raka vrata maternice.[34]

Studije raka vrata maternice na transgenom mišjem modelu pokazale su da je E7 povećao proliferaciju i broj kopija centrosoma i inducirao progresiju multifokalnih mikroinvazivnih karcinoma vrata maternice, dok je E6 povećao broj kopija centrosoma i eliminirao uočljivi protein p53, ali nije proizveo neoplaziju ili rak.



Slika 2. Shematski prikaz produktivnog životnog ciklusa HPV-a do razvoja raka. A) HPV-infekcije u početnom stadiju te nakon niza godina razvoja karcinoma. Uslijed mikrooštećenja epitela, HPV-virioni inficiraju bazalne stanice. Ekspresija pojedinih gena prati diferencijaciju epitelnih stanica od bazalne membrane do pločastih stanica koje se nalaze u gornjem sloju epidermisa. U početnoj fazi infekcije prepisuju se rani geni koji reguliraju virusnu replikaciju i transkripciju. B) Ako imunološki sustav domaćina ne riješi virusnu infekciju i ona traje dulje vrijeme (godinama) razvijaju se predstadiji bolesti, a potom karcinom. Uznapredovali stadij bolesti popraćen je smanjenim brojem proizvodnje viriona te pojačanom ekspresijom virusnih onkoproteina E6 i E7 koji djeluju zajednički na tumor-supresore p53 i pRB, redom. E6 uz pomoć ubikvitin-protein ligaze E6AP veže i razgrađuje p53, dok onkoprotein E7 veže i razgrađuje pRB uz pomoć ubikvitin-Cullin-2 kompleksa. Dugoročno, HR HPV-infekcija dovodi do nekontrolirane diobe bez mogućnosti popravka genetskih grešaka, imortalizacije, genetske nestabilnosti, gubitka staničnе polarnosti te konačne transformacije stanice domaćina (invazivni karcinom).

Figure 2. Schematic representation of the productive HPV life cycle and cancer development. A) HPV infection in the initial stage and after several years of cancer development. HPV virions infect the basal cells through epithelial micro-lesions. The expression of individual genes follows the differentiation of epithelial cells from the basal layer to the suprabasal squamous cell layers of the epidermis. In the initial stage of infection, early genes are expressed and they regulate viral replication and transcription. B) If the host's immune system does not resolve the viral infection and it persists for a long period of time (several years), this first leads to pre-cancerous lesions and then to cancer development. The advanced stage of the disease is accompanied by a reduced number of virion production and increased expression of viral oncoproteins E6 and E7, which act jointly on tumor suppressors p53 and pRB, respectively. E6 binds and degrades p53 with the help of ubiquitin-ligase E6AP (35), while oncoprotein E7 binds and degrades pRB with the help of Cullin-2 ubiquitin ligase complex (36). E5 further contributes to the action of E6 and E7. In the long term, HR HPV infection leads to uncontrolled cellular division without the possibility of repairing genetic defects, immortalization, genetic instability, loss of cellular polarity and finally, malignant transformation of host cells (invasive cancer).

Važan je podatak da je kombinacija obaju onkoproteina rezultirala povećanim brojem centrosoma i velikim, jako invazivnim karcinomima.[37] Slična su zapažanja zabilježena i na mišjim modelima pločastih stanica raka glave i vrata (engl. HNSCC, *head and neck squamous cell carcinoma*). U njima se pokazalo da je E7 glavni transformirajući onkoprotein, dok se čini da E6 vjerojatnije igra sekundarnu ulogu, gdje više doprinosi u kasnijim stadijima malignosti.[38] Na temelju tih studija razvijen je model karcinogeneze izazvane HPV-om. Stoga se ova dva onkoproteina smatraju izvrsnim ciljevima za terapijsku intervenciju, a razumi-

jevanje molekularnih mehanizama koji leže u osnovi njihovih funkcija presudno je za razvoj takvih antivirusnih terapija.

Infekcije HR HPV-a u regiji glave i vrata

Većina tumora glave i vrata povezanih s infekcijom HR HPV javlja se u orofarinksu, poglavito tonzilama, dok je manji broj u usnoj šupljini i larinksu.[39–42] Kripte tonzila su obložene specijaliziranim pločastim i isprepletenim epitelom koji je infiltriran limfoidnim tkivom i bazalnim stanicama.[42] Prisutnost bazaloidnih stanica sugerira osjetljivost na HPV-infekciju, a smatra se da je ovo i preferencijalna zona koja olakšava virusu izbjegavanje imunološkog odgovora. Jednako je važno da ovo tkivo ne održava polarizaciju i površinsko sazrijevanje koje se nalazi u slojevitom pločastom epitelu. Dakle, u ovom bazaloidnom tkivu, zbog smanjenja polarizacije epitela te nedostatka barijere i bazalnih stanica, dolazi do povećanja mogućnosti za trajnu infekciju. Velika većina karcinoma povezanih s HPV-om na područjima bazaloidnih stanica pozitivna je na HPV-16, s vrlo malim udjelom ostalih tipova HPV-a poput HPV tipova 18, 31 i 33,[3,43–46] a razlozi za to još nisu jasni. Zanimljivo je da je vrijeme između početne infekcije i razvoja bolesti kod karcinoma glave i vrata znatno kraće nego kod anogenitalnih karcinoma.[47] Sve to ukazuje na složenu interakciju virusa i replikacijskog okruženja u području tonzila.

Otprilike 70% karcinoma vrata maternice uzrokuju HPV-16 i HPV-18 (tablica 2), a mnoge stanične mete onkoproteina E6 i E7 zajedničke su za oba tipa virusa, dok razlike leže samo u stupnju interakcije. Suprotno tomu, gotovo ništa nije poznato o njihovim staničnim supstratima u orofarinksu, koji mogu biti vrlo različiti zbog složenosti tkiva i okolnog okruženja. Potrebne su biokemijske i mehaničke studije virusnih onkogena i njihovih interakcijskih partnera u stanicama orofarinksa kako bi se razjasnile potencijalne razlike, kako u produktivnom životnom ciklusu virusa, tako i u malignosti izazvanoj ovim virusom.[30]

Zaključak

Zanimljivo je da isti tip virusa, HPV-16, može pokazivati različita svojstva ovisno o mjestu zaraze. Svakako, čini se da je njegova aktivnost koja izaziva rak mnogo veća u tkivima s transformacijskom zonom, poput vrata maternice, anusa ili tonzila, nego u onima gdje nije jasno predilekcijsko mjesto zaraze.[48] Stoga, iako smo stekli veće razumijevanje o načinu funkcioniranja virusnih onkoproteina, još uvijek treba mnogo naučiti o njihovim aktivnostima u različitim vrstama tkiva i njihovom okolišu.

Kratice

HPV, papilomavirus čovjeka (od engl. *human papillomavirus*); LR, niskorizični (od engl. *low risk*); HR, visokorizični (od engl. *high risk*); E6/E7, rani protein 6/7 (od engl. *early protein* 6/7); HNSCC, rak skvamoznih stanica glave i vrata (od engl. *head-and-neck squamous cell cancers*)

Simboli

Alfa (α), beta (β), gama (γ), mi (μ) i ni (ν); ↑, povišenje; ↓, smanjenje.

Zahvala

Za financijsku potporu istraživačkih projekata autori zahvaljuju Hrvatskoj zakladi za znanost (projekt IP-2016-06-2246, voditelj VT; projekt IP-2013-11-4758, voditelj MG) te Međunarodnom centru za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju (ICGEB-*Early Career Return Grant*, projekt br. CRP/16/018, voditelj VT).

LITERATURA

1. *de Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM.* Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. Lancet Glob Health. 2020;8(2): e180–90.
2. *de Villiers E-M, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, zur Hausen H.* Classification of papillomaviruses. Virology. 2004;324 (1):17–27.
3. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 90 Human papillomaviruses.* Vol. 90. Lyon, France: IARC Press; 2007.
4. *Bernard H-U, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, Hausen H zur, de Villiers E-M.* Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. Virology. 2010;401(1):70–9.
5. *Chaturvedi AK, Anderson WF, Lortet-Tieulent J, Curado MP, Ferlay J, Franceschi S i sur.* Worldwide Trends in Incidence Rates for Oral Cavity and Oropharyngeal Cancers. JCO. 2013;31(36):4550–9.
6. *Combes J-D, Chen AA, Franceschi S.* Prevalence of human papillomavirus in cancer of the oropharynx by gender. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2014;23(12):2954–8.
7. *Ragin CCR, Taioli E.* Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: Review and meta-analysis. Inter J Cancer. 2007;121 (8):1813–20.
8. *Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF i sur.* Human Papillomavirus and Survival of Patients with Oropharyngeal Cancer. N Engl J Med. 2010;363(1): 24–35.
9. *Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H i sur.* Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. J Natl Cancer Inst. 2008;100(4):261–9.
10. *de Sanjose S, Quint W, Alemany L, Geraets D, Klaustermeier J, Lloveras B i sur.* Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. Lancet Oncol. 2010;11(11):1048–56.
11. *Muñoz N.* Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. J Clin Virol. 2000;19(1):1–5.
12. *Serrano B, de Sanjosé S, Tous S, Quiros B, Muñoz N, Bosch X i sur.* Human papillomavirus genotype attribution for HPVs 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 and 58 in female anogenital lesions. Eur J Cancer. 2015;51(13):1732–41.

13. *Alemany L, Saunier M, Tinoco L, Quirós B, Alvarado-Cabrero I, Alejo M i sur.* Large contribution of human papillomavirus in vaginal neoplastic lesions: a worldwide study in 597 samples. Eur J Cancer. 2014;50(16):2846–54.
14. *Zhang J, Zhang Y, Zhang Z.* Prevalence of human papillomavirus and its prognostic value in vulvar cancer: A systematic review and meta-analysis. PLOS ONE. 2018;13(9):e0204162.
15. *Hartwig S, Syrjänen S, Dominiak-Felden G, Brotons M, Castellsagué X.* Estimation of the epidemiological burden of human papillomavirus-related cancers and non-malignant diseases in men in Europe: a review. BMC Cancer. 2012;12:30.
16. *Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S.* Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005;14(2):467–75.
17. *Yete S, D'Souza W, Saranath D.* High-Risk Human Papillomavirus in Oral Cancer: Clinical Implications. Oncology. 2018; 94(3):133–41.
18. *Stein AP, Saha S, Kraninger JL, Swick AD, Yu M, Lambertg PF i sur.* Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal cancer: a systematic review. Cancer J. 2015;21(3):138–46.
19. *Grce M, Sabol I, Milutin Gašperov N.* The transforming properties of human papillomavirus oncoproteins. Period Biol. 2012;114(4):479–87.
20. *Tomaić V.* Functional Roles of E6 and E7 Oncoproteins in HPV-Induced Malignancies at Diverse Anatomical Sites. Cancers (Basel). 2016;8(10).
21. *Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR i sur.* The biology and life-cycle of human papillomaviruses. Vaccine. 2012;30 Suppl 5:F55–70.
22. *Matovina M, Sabol I, Grubisic G, Milutin Gasperov N, Grce N.* Identification of human papillomavirus type 16 integration sites in high-grade precancerous cervical lesions. Gynecol Oncol. 2009;113(1):120–7.
23. *Ferber MJ, Thorland EC, Brink AA, Rapp AK, Phillips LA, McGovern R i sur.* Preferential integration of human papillomavirus type 18 near the c-myc locus in cervical carcinoma. Oncogene. 2003;22(46):7233–42.
24. *Cullen AP, Reid R, Campion M, Lörincz AT.* Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasm. J Virol. 1991; 65(2):606–12.
25. *Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P i sur.* Type-Dependent Integration Frequency of Human Papillomavirus Genomes in Cervical Lesions. Cancer Res. 2008;68(1):307–13.
26. *Jeon S, Lambert PF.* Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci USA. 1995;92(5):1654.
27. *Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM.* The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. Cell. 1990; 63(6):1129–36.
28. *Huh K, Zhou X, Hayakawa H, Cho J-Y, Libermann TA, Jin J i sur.* Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein associates with the cullin 2 ubiquitin ligase complex, which contributes to degradation of the retinoblastoma tumor suppressor. J Virol. 2007;81(18):9737–47.
29. *Thomas M, Narayan N, Pim D, Tomaić V, Massimi P, Nagasaka K i sur.* Human papillomaviruses, cervical cancer and cell polarity. Oncogene. 2008;27(55):7018–30.
30. *Đukić A, Lulić L, Thomas M, Skelin J, Bennett Saidu NE, Grce M i sur.* HPV Oncoproteins and the Ubiquitin Proteasome System: A Signature of Malignancy? Pathogens. 2020;9(2):133.
31. *Moody CA, Laimins LA.* Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. Nature Rev Cancer. 2010; 10(8):550–60.
32. *Androphy EJ, Hubbert NL, Schiller JT, Lowy DR.* Identification of the HPV-16 E6 protein from transformed mouse cells and human cervical carcinoma cell lines. EMBO J. 1987;6(4): 989–92.
33. *Smotkin D, Wettstein FO.* Transcription of human papillomavirus type 16 early genes in a cervical cancer and a cancer-derived cell line and identification of the E7 protein. Proc Natl Acad Sci USA. 1986;83(13):4680–4.
34. *Gao G, Johnson SH, Kasperbauer JL, Eckloff BW, Tombers NM, Vasmatzis G i sur.* Mate pair sequencing of oropharyngeal squamous cell carcinomas reveals that HPV integration occurs much less frequently than in cervical cancer. J Clin Virol. 2014;59(3):195–200.
35. *Werness BA, Levine AJ, Howley PM.* Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. Science. 1990;248(4951):76–9.
36. *Dyson N, Guida P, Münger K, Harlow E.* Homologous sequences in adenovirus E1A and human papillomavirus E7 proteins mediate interaction with the same set of cellular proteins. J Virol. 1992;66(12):6893–902.
37. *Riley RR, Duensing S, Brake T, Munger K, Lambert PF, Arbeit JM.* Dissection of human papillomavirus E6 and E7 function in transgenic mouse models of cervical carcinogenesis. Cancer Res. 2003;63(16):4862.
38. *Strati K, Lambert PF.* Role of Rb-Dependent and Rb-Independent Functions of Papillomavirus E7 Oncogene in Head and Neck Cancer. Cancer Res. 2007;67(24):11585–93.
39. *Dok R, Nuyts S.* HPV Positive Head and Neck Cancers: Molecular Pathogenesis and Evolving Treatment Strategies. Cancers (Basel). 2016;8(4), 41.
40. *Mirghani H, Amen F, Moreau F, Guigay J, Ferchiou M, Melkane AE i sur.* Human papilloma virus testing in oropharyngeal squamous cell carcinoma: what the clinician should know. Oral Oncol. 2014;50(1):1–9.
41. *Hübbers CU, Akgül B.* HPV and cancer of the oral cavity. Virulence. 2015;6(3):244–8.
42. *Westra WH.* The Morphologic Profile of HPV-Related Head and Neck Squamous Carcinoma: Implications for Diagnosis, Prognosis, and Clinical Management. Head Neck Pathol. 2012;6(Suppl 1):48–54.
43. *Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F i sur.* A review of human carcinogens-Part B: biological agents. Lancet Oncol. 2009;10(4):321–2.
44. *St Guily JL, Jacquard A-C, Prétet J-L, Haesebaert J, Beby-Defaux A, Clavel C i sur.* Human papillomavirus genotype distribution in oropharynx and oral cavity cancer in France-The EDiTH VI study. J Clin Virol. 2011;51(2):100–4.
45. *Adams AK, Wise-Draper TM, Wells SI.* Human Papillomavirus Induced Transformation in Cervical and Head and Neck Cancers. Cancers (Basel). 2014;6(3):1793–820.
46. *Chai RC, Lambie D, Verma M, Punyadeera C.* Current trends in the etiology and diagnosis of HPV-related head and neck cancers. Cancer Med. 2015;4(4):596–607.
47. *Kreimer AR, Johansson M, Waterboer T, Kaaks R, Chang-Claude J, Drogen D i sur.* Evaluation of human papillomavirus antibodies and risk of subsequent head and neck cancer. J Clin Oncol. 2013;31(21):2708–15.
48. *Doorbar J, Griffin H.* Refining our understanding of cervical neoplasia and its cellular origins. Papillomavirus Res. 2019; 7:176–9.

Liječ Vjesn 2022;144:112–116
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-8

Farmakoterapijski savjetnik | Advices in pharmacotherapy

Terapijske mogućnosti liječenja intersticijskih bolesti pluća u sklopu sistemskih reumatskih bolesti – primjer sistemske skleroze

Therapeutic options for the treatment of interstitial lung diseases in systemic rheumatic diseases – systemic sclerosis as an example

Marko Barešić[1]✉, Branimir Anić[1]

[1] Zavod za kliničku imunologiju i reumatologiju, Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta, KBC Zagreb

Deskriptori
INTERSTICIJSKA BOLEST PLUĆA – etiologija, farmakoterapija; SISTEMSKA SKLEROZA – farmakoterapija, komplikacije; IMUNOSUPRESIVI – terapijska uporaba; CIKLOFOSFAMID – terapijska uporaba; MIKOFENOLNA KISELINA – terapijska uporaba; RITUKSIMAB – terapijska uporaba; HUMANIZIRANA MONOKLONSKA PROTUTIJELA – terapijska uporaba; INDOLI – terapijska uporaba; PIRIDONI – terapijska uporaba; TRANSPLANTACIJA KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA; AUTOLOGNA TRANSPLANTACIJA

SAŽETAK. Sistemska skleroza je sustavna bolest vezivnog tkiva autoimunosne etiologije karakterizirana stvaranjem fibroze, prvenstveno kože, ali i plućnog parenhima. Intersticijska bolest pluća jedna je od najtežih manifestacija bolesti te ujedno i vodeći uzrok smrti oboljelih od sistemske skleroze. Prikazan je kratak pregled terapijskih mogućnosti liječenja intersticijske bolesti pluća kod bolesnika sa sistemskom sklerozom i srodnim autoimunosnim bolestima. Terapijske mogućnosti prvenstveno uključuju imunosupresive i biološke lijekove (ciklofosfamid, mikofenolat mofetil te rituksimab i tocilizumab), a potom i lijekove koji djeluju na patogenezu remodeliranja fibroznog tkiva (antifibrotici). Sve je više dokaza da bi kombininacija imunosupresivne i antifibrotske terapije mogla imati povoljan učinak na plućnu komponentu bolesti. U zadnje se vrijeme transplantacija autolognih krvotvornih matičnih stanica nudi kao terapijski izbor za skupinu bolesnika s progresivnim tijekom bolesti, no metoda je ograničena na centre koji imaju iskustva s transplantacijom.

Descriptors
LUNG DISEASES, INTERSTITIAL – drug therapy, etiology; SCLERODERMA, SYSTEMIC – complications, drug therapy; IMMNUNOSUPPRESSIVE AGENTS – therapeutic use; CYCLOPHOSPHAMIDE – therapeutic use; MYCOPHENOLIC ACID – therapeutic use; RITUXIMAB – therapeutic use; ANTIBODIES, MONOCLONAL, HUMANIZED – therapeutic use; INDOLES – therapeutic use; PYRIDONES – therapeutic use; HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION; TRANSPLANTATION, AUTOLOGOUS

SUMMARY. Systemic sclerosis is a multisystem autoimmune disorder characterized by widespread fibrosis, primarily of the skin but also of the lung parenchyma. Interstitial lung disease is one of the most severe manifestations of the disease and a leading cause of death among patients with systemic sclerosis. This article presents and summarizes therapeutic options for interstitial lung disease – predominantely immunosuppressives and biologics (cyclophosphamide, mycophenolate mofetil, rituximab and tocilizumab) and the drugs which remodel fibrotic tissue (antifibrotics). There is increasing evidence for a beneficial effect of combination therapy (immunosuppressive + antifibrotic) on the lung parenchyma. Recently, autologous hematopoietic stem cell transplantation seems to be a therapeutic method reserved for the treatment of progressive forms of systemic sclerosis and should be performed in medical centers with experience in transplantation medicine.

Sistemska skleroza (SScl) je kronična i neizliječiva sustavna autoimunosna bolest u čijoj se patogenezi isprepliću vaskularne promjene, imunosne abnormalnosti te sklonost razvoju fibroze kože i visceralnih organa.[1] Učestalost i pojavnost bolesti kao i klinička očitovanja bolesti (tj. zahvaćanje različitih organskih sustava) variraju ovisno o geografskoj regiji.[2,3] Žene obolijevaju češće, a prvo je očitovanje bolesti najčešće Raynaudov sindrom. Pojam „skleroderma“, koji se nerijetko susreće, treba koristiti samo za kožno očitovanje bolesti, a nikako ne kao sinonim za sustavnu bolest. Naziv „sistemska skleroza“ podrazumijeva dva oblika bolesti – ograničeni i prošireni kožni oblik (engl. *limited cutaneous systemic sclerosis* – lcSScl, *diffuse cutaneous systemic sclerosis* – dcSScl). Ograničeni kožni oblik (lcSScl) obilježen je pojavom podbuhlih šaka (engl. *puffy hands*), fibrozom kože distalnih dijelova okrajina uz poštedu trupa i proksimalnih dijelova udova te vaskularnim komplikacijama (izraženiji Raynaudov sindrom, teleangiektazije i plućna arterijska hipertenzija). Kod proširenog kožnog oblika (dcSScl) bolesnici uz podbuhle šake imaju zahvaćene veće površine kože uz sklonost razvoju intersticijske bolesti pluća, bubrežnih kriza i afekcije srca.[1]

Zahvaćenost pluća, odnosno intersticijska bolest pluća (skr. ILD, prema engl. *interstitial lung disease*) česta je manifestacija sistemske skleroze čija učestalost također pokazuje znatne geografske razlike. Među bolesnicima u Europi intersticijska se bolest pluća nalazi u oko trećine, dok se kod američkih bolesnika nađe u oko polovice oboljelih. Bolest se najčešće dijagnosticira u prve tri godine trajanja sistemske skleroze.[4]

SScl se ubraja u reprezentativne bolesti za proučavanje i ispitivanje intersticijskih manifestacija te u ovoj indikaciji ima najviše objavljenih podataka za terapijske postupke. No, isto tako i neke druge sustavne bolesti vezivnog tkiva (primjerice reumatoidni artritis,

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prim. Marko Barešić, dr. med., https://orcid.org/0000-0001-6281-5705
Zavod za kliničku imunologiju i reumatologiju, Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb;
e-pošta: markobaresic@gmail.com

Primljeno 20. prosinca 2021., prihvaćeno 25. veljače 2022.

sistemski eritemski lupus, Sjögrenov sindrom, miješana bolest vezivnog tkiva, upalne idiopatske miopatije i sl.) također imaju plućne manifestacije u intersticiju.[5]

Standardna je metoda za potvrdu dijagnoze ILD-a kompjuterizirana tomografija visoke rezolucije (engl. *high resolution computerized tomography* – skr. HRCT). Procjena plućnih funkcija forsiranim vitalnim kapacitetom (engl. *forced vital capacity* – skr. FVC), forsiranim ekspiratornim volumenom u prvoj sekundi (engl. *forced expiratory volume during the first second* – skr. FEV1) i difuzijskim kapacitetom za ugljikov monoksid (engl. *diffusing capacity for carbon monoxide* – skr. DLCO) bitna je za utvrđivanje težine ILD-a. ILD se najčešće prezentira kao nespecifična intersticijska pneumonija (skr. NSIP) – bazalno prisutne retikulacije i zadebljanje zidova alveola. No, mogući su i drugi uzorci na HRCT-u kao što su uobičajena intersticijska pneumonija (skr. UIP) i organizirajuća pneumonija (skr. OP).

Intersticijska bolest pluća u bolesnika sa sistemskom sklerozom vodeći je uzrok smrti (oko 35% slučajeva).[6] Upravo stoga se inzistira na što ranijem prepoznavanju i dokazivanju zahvaćenosti pluća te u konačnici i ranijem započinjanju specifičnog liječenja diferentnim terapijskim sredstvima.[7] U liječenju se koriste brojni klasični imunosupresivni lijekovi, a u posljednje vrijeme biološki lijekovi (monoklonska protutijela) te antifibrotici.[8,9] Primjena „klasičnih" imunosupresivnih/imunomodulatornih lijekova (poput azatioprina ili metotreksata) te primjena pripravaka intavenskih imunoglobulina u posljednje je vrijeme uglavnom napuštena te oni nisu prikazani u nastavku teksta.

„Klasični" imunosupresivni lijekovi

a. Ciklofosfamid

Ciklofosfamid je antineoplastički i imunomodulacijski citostatik koji djelovanje ostvaruje putem alkilacije DNA uz inhibitorno djelovanje na limfocite T i B.

U studiji *Scleroderma Lung Study 1* (skr. SLS 1) u skupini od 158 bolesnika s aktivnim alevolitisom tijekom 12 mjeseci uspoređivan je učinak oralno primijenjenog ciklofosfamida (2 mg/kg dnevno) u odnosu na placebo. Bolesnici koji su primali ciklofosfamid ostvarili su primarni cilj studije, odnosno zabilježeno je blaže poboljšanje FVC-a u odnosu na skupinu koja je primala placebo u kojoj se FVC pogrošava. Dodatno je utvrđeno i poboljšanje kvalitete života, smanjenje dispneje i postizanje ostalih sekundarnih ciljeva studije. Ipak, u bolesnika liječenih ciklofosfamidom zabilježeno je puno više nuspojava u odnosu na skupinu koja je primala placebo (prvenstveno se to odnosi na leukopeniju i neutropeniju). Nakon prekida ciklofosfamida i dodatne godine dana praćenja došlo je do pada FVC-a u oba rukavca studije, što upućuje na potrebu dugotrajnije primjene ciklofosfamida i prolaznog (reverzibilnog) učinka njegove primjene.[10] Ciklofosfamid se uglavnom primjenjuje parenteralno u dozi 500 mg/m^2 svaka 4 tjedna, a danas se puno rjeđe primjenjuje oralnim putem u dozi 1,8 – 2,3 mg/kg dnevno.

b. Mofetil mikofenolat

Mofetil mikofenolat (MMF) je imunosupresivni lijek koji citostatski učinak ostvaruje blokirajući sintezu purina *de novo* te tako zaustavlja proliferaciju limfocita T i B.

U studiji *Scleroderma Lung Study 2* (skr. SLS 2) je u skupini od 142 bolesnika ispitivana učinkovitost i sigurnost oralno primjenjenog MMF-a tijekom 24 mjeseca uzimanja u odnosu na oralno primijenjen ciklofosfamid tijekom 12 mjeseci uzimanja, nakon čega su bolesnici još 12 mjeseci primali placebo. Ishod studije bio je povoljan i za MMF i ciklofosfamid što se tiče učinkovitosti. Zabilježeno je kliničko poboljšanje bolesnika te se pratilo poboljšanje FVC-a, statusa kože, dispneje i radiološkog nalaza. Jedina veća zabilježena razlika odnosila se na veću sigurnost i bolje podnošenje MMF-a u odnosu na ciklofosfamid[11] što je i razlog sve češćeg propisivanja MMF (u odnosu na ciklofosfamid) u bolesnika s progresivnim ILD-om.

MMF se primjenjuje isključivo u oralnom obliku – počinje se s dozom od 2 puta dnevno po 500 mg do maksimalne dnevne doze od 2 puta dnevno po 1500 mg.

Biološki lijekovi

a. Rituksimab

Rituksimab (RTX) je monoklonsko protutijelo koje (citostatski) učinak ostvaruje vezivanjem na antigen CD20 na površini limfocita B te time dovodi do deplecije tih limfocita. Povoljan učinak deplecijske terapije RTX-om zabilježen je i kod ostalih bolesti kod kojih su limfociti B ključni u patogenezi (primjerice limfoma, reumatoidnog artritisa, ANCA-vaskulitisa, SLE).[12–15]

Povoljan učinak RTX-a na testove plućne funkcije uz poboljšanje kožnog statusa zabilježen je u otvorenoj studiji iz 2010. godine.[16] Ispitivanje iz 2018. godine u kojem se uspoređivala intravenska primjena ciklofosfamida i RTX-a pokazala je bolji učinak RTX-a na plućne manifestacije oboljelih od sistemske skleroze, ali i na druga klinička očitovanja bolesti (primarno na kožni status).[17] Studija RECITAL je istraživanje koje uspoređuje učinkovitost RTX-a u odnosu na učinkovitost ciklofosfamida u bolesnika s autoimunosnim bolestima s pridruženom intersticijskom bolesti pluća (sistemska skleroza, upalne miopatije i miješana bolest vezivnog tkiva). Rezultati ispitivanja se očekuju krajem 2021. godine.

Rituksimab se primjenjuje isključivo u parenteralnom obliku. U literaturi se najčešće opisuju dva režima primjene. U prvom se RTX primjenjuje u početnoj dozi od 375 mg/m^2 i.v. u četiri aplikacije s razmakom od 7 dana koju slijede doze održavanja za 6 mjeseci. Druga najčešća opcija jest primjena 1000 mg i.v. u dvije aplikacije s razmakom od 14 dana koju slijede doze održavanja za 6 mjeseci.

b. Tocilizumab

Tocilizumab (TCZ) je monoklonsko protutijelo koje se specifično veže za topljive i za membranske receptore za interleukin-6 (IL-6) te blokira učinak pleomorfnoga proupalnog citokina IL-6. Povoljni učinci TCZ-a zabilježeni su u studiji faze 2 – *faSScinate*[18], a dodatno su razrađeni u studiji *focuSSced*, randomiziranom, dvostruko slijepom i placebom kontroliranom ispitivanju faze 3 u 212 bolesnika sa sistemskom sklerozom. Unatoč tomu što ispitivanje *focuSSced* nije zadovoljilo primarni cilj (utjecaj TCZ-a na status kože), zabilježen je povoljan učinak na testove plućne funkcije i utvrđen manji pad FVC-a u odnosu na skupinu koja je primala placebo. Najbolji rezultati zabilježeni su kod bolesnika s upalnim fenotipom bolesti (povišen CRP) i s prisutnim artritisom.[19]

Tocilizumab se primjenjuje isključivo parenteralnim putem u dozi od 162 mg s.c. svakih 7 dana.

Antifibrotici

a. Nintedanib

Nintedanib je inhibitor tirozin-kinaze koji utječe na patogenezu remodeliranja fibroznog tkiva. Učinkovitost nintedaniba dokazana je u liječenju bolesnika s idiopatskom plućnom fibrozom (skr. IPF). Pozitivni rezultati zabilježeni su u studiji INBUILD (dvostruko slijepo, randomizirano, placebom kontrolirano ispitivanje faze 3) u kojoj je četvrtina bolesnika imala progresivnu fibrozirajuću intersticijsku bolest pluća udruženu sa sustavnim bolestima vezivnog tkiva.[20] Nadalje, zabilježeni su povoljni učinci kod liječenja bolesnika s progresivnom fibrozirajućom intersticijskom bolesti pluća u sklopu sistemske skleroze u studiji SENSCIS. Utvrđeno je statistički značajno manje godišnje sniženje FVC-a u bolesnika koji su primali nintedanib u odnosu na bolesnike koji su primali placebo, pri čemu je sigurnosni profil ostao povoljan.[21]

Nintedanib se primjenjuje oralnim putem u dozi od 2 puta po 150 mg dnevno.

b. Pirfenidon

Pirfenidon je imunosupresiv/antifibrotik čiji mehanizam djelovanja nije u potpunosti razjašnjen, no čini se da utječe na proces proliferacije putem inhibicije čimbenika rasta i određenih citokina. U otvorenom ispitivanju faze 2 (LOTUSS) bolesnici su primali ili placebo ili pirfenidon (uz titraciju doze prema višoj). Bolesnici su dobro podnosili lijek, no jasni zaključci o učinkovitosti nisu doneseni.[22] Ispitivanje LOTUSS prethodilo je studiji *Scleroderma Lung Study 3* koja je u tijeku i u kojoj se ispituje učinak pirfenidona u kombinaciji s MMF-om.

Pirfenidon se propisuje u oralnom obliku. Počinje se dozom od 3 puta 267 mg dnevno s tendencijom povećavanja do maksimalne doze od 3 puta 801 mg dnevno.

Ostale metode liječenja

a. Transplantacija autolognih krvotvornih matičnih stanica

Sve je više dostupnih podataka da je transplantacija autolognih krvotvornih matičnih stanica učinkovitija od konvencionalne imunosupresivne terapije te da može dovesti do dužeg preživljenja i poboljšanja statusa kože i zahvaćenih unutrašnjih organa, pa tako i intersticijske bolesti pluća. Najpogodniji su kandidati za postupak bolesnici koji imaju progresivno zahvaćanje kože, visoku aktivnost bolesti i tek blaže zahvaćanje unutrašnjih organa.[23] Transplantacija autolognih krvotvornih matičnih stanica trebala bi se izvoditi u centrima koji imaju iskustva s postupkom te mogu zbrinuti moguće akutne i kronične komplikacije s kojima se bolesnici mogu susresti. U Republici Hrvatskoj su u KBC-u Zagreb učinjene dvije transplantacije u bolesnika sa SScl-om (2017. i 2021. godine) s povoljnim učinkom na klinički tijek sistemske skleroze uz napomenu da još uvijek nema podataka o dugoročnom ishodu.[24,25]

b. Transplantacija pluća

Transplantacija pluća (ili istodobna transplantacija srca i pluća) jedna je od mogućnosti liječenja intersticijskih bolesti pluća kod oboljelih od sistemske skleroze. Zbog multisistemskog karaktera bolesti transplantacija se rijetko provodi i to samo u visokospecijaliziranim centrima. U međunarodnoj, multicentričnoj kohorti od 90 bolesnika sa SScl-om posttransplantacijsko preživljenje bez odbacivanja presatka bilo je slično onome kod transplantacija koje su provedene zbog drugog razloga. Lošiji je ishod ipak zabilježen u žena te u bolesnika s plućnom arterijskom hipertenzijom.[26]

Lijekovi u ispitivanju

Uz već nabrojene lijekove u istraživačkom postupku učinka na intersticijsku bolest pluća kod sistemske skleroze ispituju preparati ACE-1334 (šifra ispitivanja: NCT04948554) i iksazomib (šifra ispitivanja: NCT04 837131).[27]

Trenutačno je od svih spomenutih lijekova Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and drug administration,* skr. FDA) u rujnu 2019. registrirala nintedanib za liječenje intersticijske bolesti pluća u sklopu sistemske skleroze, dok je Europska agencija za lijekove (engl. *European medicine agency,* skr. EMA) to učinila u veljači 2020. godine. U ožujku 2021. FDA je registrirao tocilizumab za liječenje intersticijske bolesti pluća u sklopu sistemske skleroze. Hrvatsko reumatološko društvo HLZ-a objavilo je na svojoj stranici mišljenje o primjeni nintedaniba u liječenju progresivnoga fibrozirajućeg ILD-a u sklopu sustavnih autoimunosnih bolesti,[28] a preporuke za standardizirani algoritam dijagnostike ILD-a i za liječenje bolesnika s ILD-om su u pripremi.

Zaključak

Intersticijske bolesti pluća u bolesnika sa sistemskom sklerozom, ali i ostalim sustavnim bolestima vezivnog tkiva (RA, SLE, SSjö, MCTD, upalne idiopatske miopatije i sl.) predstavljaju terapijski izazov. Zahvaćanje plućnog intersticija (ILD) općenito se smatra lošim prognostičkim znakom i glavni je uzrok smrti kod tih bolesnika. Upravo stoga se inzistira na ranom prepoznavanju i stupnjevanju težine intersticijske bolesti pluća te što ranijem započinjanju diferentne medikamentozne terapije. Izbor terapijskih opcija znatno je proširen u posljednjih nekoliko godina. Na temelju rezultata iz do sada provedenih studija može se pretpostaviti da će bolesnike trebati liječiti kombiniranom terapijom, tj. primijeniti imunosupresiv i antifibrotik te redovito pratiti testove plućne funkcije i dinamiku radioloških promjena na plućima (HRCT). Uz navedene lijekove postoje preparati koji su trenutačno u ranim fazama ispitivanja, a oni su svakako potrebni zbog brojnih nezadovoljenih terapijskih potreba.

LITERATURA

1. *Denton CP, Khanna D.* Systemic sclerosis. Lancet. 2017;390 (10103):1685–1699. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30933-9.
2. *Radić M, Martinović Kaliterna D, Fabijanić D, Radić J.* Prevalence of systemic sclerosis in Split-Dalmatia county in Southern Croatia. Clin Rheumatol. 2010;29(4):419–21. doi: 10.1007 /s10067-009-1341-6.
3. *Zhong L, Pope M, Shen Y, Hernandez JJ, Wu L.* Prevalence and incidence of systemic sclerosis: A systematic review and meta-analysis. Int J Rheum Dis. 2019;22(12):2096–2107. doi: 10.1111/1756-185X.13716.
4. *Bergamasco A, Hartmann N, Wallace L, Verpillat P.* Epidemiology of systemic sclerosis and systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. Clin Epidemiol. 2019;11:257–273. doi: 10.2147/CLEP.S191418.
5. *Fischer A, du Bois R.* Interstitial lung disease in connective tissue disorders. Lancet. 2012;380(9842):689–98. doi: 10.1016 /S0140-6736(12)61079-4. *Erratum* u: Lancet. 2012;380 (9848):1148.
6. *Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M i sur.* Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database. Ann Rheum Dis. 2010;69(10):1809–15. doi: 10.1136/ard.2009. 114264.
7. *Fischer A, Patel NM, Volkmann ER.* Interstitial Lung Disease in Systemic Sclerosis: Focus on Early Detection and Intervention. Open Access Rheumatol. 2019;11:283–307. doi: 10.2147/ OARRR.S226695.
8. *Campochiaro C, Allanore Y.* An update on targeted therapies in systemic sclerosis based on a systematic review from the last 3 years. Arthritis Res Ther. 2021;23(1):155. doi: 10.1186/ s13075-021-02536-5.
9. *Ruaro B, Confalonieri M, Matucci-Cerinic M, Salton F, Confalonieri P, Santagiuliana M i sur.* The Treatment of Lung Involvement in Systemic Sclerosis. Pharmaceuticals (Basel). 2021;14(2):154. doi: 10.3390/ph14020154.
10. *Clements PJ, Roth MD, Elashoff R, Tashkin DP, Goldin J, Silver RM i sur.* Scleroderma Lung Study Group. Scleroderma lung study (SLS): differences in the presentation and course of patients with limited versus diffuse systemic sclerosis. Ann Rheum Dis. 2007;66(12):1641–7. doi: 10.1136/ard.2007.069518.
11. *Tashkin DP, Roth MD, Clements PJ, Furst DE, Khanna D, Kleerup EC i sur; Sclerodema Lung Study II Investigators.* Mycophenolate mofetil versus oral cyclophosphamide in scleroderma-related interstitial lung disease (SLS II): a randomised controlled, double-blind, parallel group trial. Lancet Respir Med. 2016;4(9):708–719. doi: 10.1016/S2213-2600 (16)30152-7.
12. *Shouse G, Herrera AF.* Advances in Immunotherapy for Diffuse Large B Cell Lymphoma. BioDrugs. 2021;35(5):517–528. doi: 10.1007/s40259-021-00491-w.
13. *Tavakolpour S, Alesaeidi S, Darvishi M, GhasemiAdl M, Darabi-Monadi S, Akhlaghdoust M, Elikaei Behjati S, Jafarieh A.* A comprehensive review of rituximab therapy in rheumatoid arthritis patients. Clin Rheumatol. 2019;38(11):2977–2994. doi: 10.1007/s10067-019-04699-8.
14. *Raffray L, Guillevin L.* Rituximab treatment of ANCA-associated vasculitis. Expert Opin Biol Ther. 2020;20(8):899–910. doi: 10.1080/14712598.2020.1748597.
15. *Parodis I, Stockfelt M, Sjöwall C.* B Cell Therapy in Systemic Lupus Erythematosus: From Rationale to Clinical Practice. Front Med (Lausanne). 2020 9;7:316. doi: 10.3389/fmed. 2020.00316.
16. *Daoussis D, Liossis SN, Tsamandas AC, Kalogeropoulou C, Kazantzi A, Sirinian C i sur.* Experience with rituximab in scleroderma: results from a 1-year, proof-of-principle study. Rheumatology (Oxford). 2010;49(2):271–80. doi: 10.1093/ rheumatology/kep093.
17. *Sircar G, Goswami RP, Sircar D, Ghosh A, Ghosh P.* Intravenous cyclophosphamide vs rituximab for the treatment of early diffuse scleroderma lung disease: open label, randomized, controlled trial. Rheumatology (Oxford). 2018;57(12): 2106–2113. doi: 10.1093/rheumatology/key213.
18. *Khanna D, Denton CP, Jahreis A, van Laar JM, Frech TM, Anderson ME i sur.* Safety and efficacy of subcutaneous tocilizumab in adults with systemic sclerosis (faSScinate): a phase 2, randomised, controlled trial. Lancet. 2016;387(10038):2630–2640. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00232-4. *Erratum* u: Lancet. 2018;391(10128):1356.

19. *Roofeh D, Lin CJF, Goldin J, Kim GH, Furst DE, Denton CP i sur; focuSSced Investigators.* Tocilizumab Prevents Progression of Early Systemic Sclerosis-Associated Interstitial Lung Disease. Arthritis Rheumatol. 2021 Feb 3. doi: 10.1002/art.41668. Epub ahead of print.
20. *Flaherty KR, Wells AU, Cottin V, Devaraj A, Walsh SLF, Inoue Y i sur; INBUILD Trial Investigators.* Nintedanib in Progressive Fibrosing Interstitial Lung Diseases. N Engl J Med. 2019;381(18):1718–27.
21. *Distler O, Highland KB, Gahlemann M, Azuma A, Fischer A, Mayes MD i sur; SENSCIS Trial Investigators.* Nintedanib for Systemic Sclerosis-Associated Interstitial Lung Disease. N Engl J Med. 2019;380(26):2518–28.
22. *Khanna D, Albera C, Fischer A, Khalidi N, Raghu G, Chung L i sur.* An Open-label, Phase II Study of the Safety and Tolerability of Pirfenidone in Patients with Scleroderma-associated Interstitial Lung Disease: the LOTUSS Trial. J Rheumatol. 2016;43(9):1672–9. doi: 10.3899/jrheum.151322.
23. *Del Papa N, Pignataro F, Zaccara E, Maglione W, Minniti A.* Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Treatment of Systemic Sclerosis. Front Immunol. 2018;9:2390. doi: 10.3389/fimmu.2018.02390.
24. *Cerovec M, Rukavina K, Padjen I, Rončević P, Lovrić D, Anić B.* Liječenje terapijski refraktorne sistemske skleroze transplantacijom autolognih krvotvornih matičnih stanica – prikaz slučaja. Reumatizam. 2017;64(Suppl1):82.
25. *Barešić M, Smiljanić Tomičević Lj, Karanović B, Čubelić D, Anić B.* Bolesnica s progresivnom difuznom kožnom sistemskom sklerozom liječena transplantacijom autolognih matičnih stanica. Reumatizam. 2021;68(suppl1):42.
26. *Pradère P, Tudorache I, Magnusson J, Savale L, Brugiere O, Douvry B i sur; Working Group on Heart/Lung Transplantation in Systemic Sclerosis.* Lung transplantation for scleroderma lung disease: An international, multicenter, observational cohort study. J Heart Lung Transplant. 2018;37(7):903–911. doi: 10.1016/j.healun.2018.03.003.
27. *ClinicalTrials.*gov. Registar kliničkih ispitivanja. Dostupno na: https://clinicaltrials.gov. Pristupljeno 1. 12. 2021.
28. *Hrvatsko reumatološko društvo.* Mišljenje Hrvatskoga reumatološkog društva HLZ-a o primjeni nintedaniba u liječenju bolesnika s progresivnim fibrozirajućim intersticijskim bolestima pluća uz sustavne bolesti vezivnog tkiva. Dostupno na: http://www.reumatologija.org/Preporuke_list.aspx. Pristupljeno 7. 12. 2021.

Vijest | News

Tridesetosmi seminar

HRVATSKA PROLJETNA PEDIJATRIJSKA ŠKOLA

Split, 25. – 29. travnja 2022.



Organizator: Klinički bolnički centar Split – Klinika za dječje bolesti
Stručni organizatori: Hrvatsko pedijatrijsko društvo
Hrvatsko društvo za školsku i sveučilišnu medicinu
Hrvatska udruga medicinskih sestara – pedijatrijsko društvo
Sveučilište u Splitu – Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
Voditeljica: prim. doc. dr. sc. Branka Polić
Zamjenik: prim. prof. dr. sc. Joško Markić
Stručni savjetnici: prof. dr. sc. Livio Balarin, prof. dr. sc. Vjekoslav Krželj, doc. dr. sc. Radenka Kuzmanić Šamija

ZNANSTVENI PROGRAM

Hrvatska proljetna pedijatrijska škola je trajni poslijediplomski tečaj I. kategorije s međunarodnim sudjelovanjem. Namijenjena je specijalistima pedijatrije, školske i adolescentne medicine, svim liječnicima, specijalizantima, medicinskim sestrama i tehničarima te suradnim medicinskim strukama koje se bave zdravstvenom zaštitom i skrbi o djeci.

Hrvatska liječnička komora i Hrvatska komora medicinskih sestara boduju sudjelovanje na seminaru prema pravilnicima komora.

Na programu ovogodišnjeg seminara su sljedeće teme:

- Gastroenterologija
- COVID-19 u dječjoj dobi
- Nefrologija

Liječ Vjesn 2022;144:117–120
https://doi.org/10.26800/LV-144-3-4-9

Zdravstvena zaštita | Health care

Utjecaj nacionalnog zatvaranja uslijed pandemije bolesti COVID-19 na učestalost javljanja sekretornog otitisa u djece – KBC Osijek

The impact of national lockdown due to COVID-19 pandemic on frequency of occurrence of secretory otitis media in children – our experience

Darija Birtić[1,2]✉, Matej Rezo[2], Jasminka Grigić[2], Željka Laksar Klarić[1,2], Mirjana Grebenar Čerkez[1,2]

[1] Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku
[2] Klinika za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata, KBC Osijek

Deskriptori
SEKRETORNI OTITIS – epidemiologija, kirurgija; ADENOIDEKTOMIJA; MIRINGOSTOMIJA; COVID-19; PANDEMIJA; SARS-CoV-2; RETROSPEKTIVNE STUDIJE

SAŽETAK. *Cilj studije:* Prikazati utjecaj nacionalnog zatvaranja zbog pandemije bolesti COVID-19 na učestalost javljanja perzistirajuće sekretorne upale srednjeg uha u djece. *Ispitanici:* Djeca u dobi od 4 do 13 godina sa sekretornim otitisom koja su operativno liječena od 1. siječnja 2017. do 31. prosinca 2020. godine u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC-a Osijek. *Metode:* Bolesnicima je učinjena je otomikroskopija, timpanometrija, tonska audiometrija i fiberendoskopija epifarinksa. Nakon potvrde postojanja sekretornog otitisa i konzervativnog liječenja u trajanju od tri mjeseca djeca su liječena kirurški, adenotomijom i miringotomijom s postavljanjem ventilacijskih cjevčica u istostrano uho. *Rezultati:* U ovu studiju uključeno je 107 djece koji su bili operativno liječeni adenotomijom i miringotomijom s postavljanjem ventilacijskih cjevčica. Rezultati su pokazali značajan pad broja operacija u 2020. godini u odnosu na prethodne tri, pretpostavljamo uslijed nacionalnog zatvaranja. Najveću razliku bilježimo uspoređujući 2018. i 2020. godinu, kada je uočen pad broja operacija za 87%. *Zaključci:* Drastično smanjenje aktivnosti za vrijeme nacionalnog zatvaranja, ostanak i školovanje od kuće, potenciranje pravilnog i redovitog provođenja osobne higijene pridonijeli su smanjenju učestalosti jedne od najčešćih infekcija u djece. Manja učestalost akutne upale srednjeg uha pozitivno utječe na smanjenje učestalosti razvoja sekretornog otitisa u djece. Usporedbom s prethodne tri godine došlo je do značajnog pada broja djece koja zahtijevaju kirurško liječenje. Ovo je prva retrospektivna studija o utjecaju nacionalnog zatvaranja na smanjenje potrebe za kirurškim liječenjem perzistirajućega sekretornog otitisa u djece.

Descriptors
OTITIS MEDIA WITH EFFUSION – epidemiology, surgery; ADENOIDECTOMY; MIDDLE EAR VENTILATION; COVID-19; PANDEMICS; SARS-CoV-2; RETRROSPECTIVE STUDIES

SUMMARY. *Objective:* To present the impact of national lockdown due to COVID-19 pandemic on the incidence of persistent secretory otitis media in children. *Patients:* Children aged from four to 13 years who were surgically treated from 1st January 2017 to 31th December 2020 at the University Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, University Hospital Center Osijek. *Methods:* Patients underwent otomicroscopy, tympanometry, tone audiometry and fiberendoscopy of the epipharynx. After confirmation of the existence of secretory otitis the children were treated surgically, using adenotomy and myringotomy by inserting ventilation tubes in the equilateral ear. *Results:* This study included 107 children who were surgically treated with adenotomy and myringotomy by inserting ventilation tubes. The results showed a significant decline in the number of operations in 2020 compared to the previous three years, presumably due to national lockdown closures. We recorded the largest difference comparing 2018 and 2020, when the number of operations decreased by 87%. *Conclusions:* Drastic reduction of activities during the national lockdown closure, schooling from home and emphasizing the proper and regular implementation of personal hygiene have contributed to reducing the incidence of one of the most common infections in children. Lower frequency of acute otitis media has a positive effect on reducing the frequency of development of secretory otitis in children. Compared to the previous three years, there has been a significant decline in the number of children requiring surgical treatment. This is the first retrospective study on the impact of national lockdown on reducing the need for surgical treatment of persistent secretory otitis in children.

U prosincu 2019. godine u kineskom gradu Wuhanu, pokrajini Hubei, zabilježeni su prvi slučajevi upale pluća uzrokovani dotada nepoznatim virusom, koronavirusom SARS-CoV-2. Dva mjeseca nakon toga, točnije 25. veljače 2020. u Hrvatskoj je potvrđen prvi slučaj zaraze koronavirusom, nakon čega je uslijedio velik porast broja zaraženih diljem svijeta pa tako i u Republici Hrvatskoj.

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Doc. dr. sc. Darija Birtić, dr. med.,
Klinika za otorinolaringologiu i kirurgiju glave i vrata, KBC Osijek,
J. Huttlera 4, 31000 Osijek,
e-pošta: darijabirtic@yahoo.com

Primljeno 24. veljače 2021., prihvaćeno 7. prosinca 2021.

Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation*) 11. ožujka 2020. godine proglasila je globalnu pandemiju uzrokovanu virusom SARS-CoV-2 koji uzrokuje bolest COVID-19.[1,2]

Sukladno toj odluci preporučuje se izmjena u svakodnevnoj organizaciji rada zdravstvenih ustanova u sklopu borbe protiv dotada nepoznatog virusa. Preporučuje se odgoda svih elektivnih operativnih zahvata, čemu su se prilagodile i zdravstvene ustanove u Republici Hrvatskoj. U skladu s preporukama otorinolaringolozi koji se bave liječenjem dječje populacije odgodili su elektivne operativne zahvate do trenutka kada epidemiološka situacija bude povoljnija.[3] U elektivne operativne zahvate dječje dobi uvrstili smo adenotomiju i tonziloadenotomiju, koji u pravilu ne zahtijevaju hitno operativno liječenje, dok smo u prioritetne zahvate uključili adenotomiju s ugradnjom ventilacijskih cjevčica.

Poznato je da se sekretorni otitis media javlja u gotovo 50% djece mlađe od godinu dana te u gotovo 60% djece mlađe od dvije godine. Najčešći uzrok nastanka je upalne prirode – virusne ili bakterijske infekcije kojima su osobito izložena djeca koja pohađaju dječje kolektive, te mehanička opstrukcija Eustahijeve cijevi povećanim adenoidnim vegetacijama.[4,5] Ako nakon tri mjeseca ne dođe do spontanog oporavka ili konzervativno liječenje ne dovede do pozitivnog rezultata, odlučujemo se na kirurško liječenje u skladu sa smjernicama Hrvatskog društva za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata.[4] Pretpostavili smo da bi izvanredna situacija u Republici Hrvatskoj, koja podrazumijeva smanjenje broja socijalnih kontakata djece zbog prekida boravka u kolektivu, mogla pridonijeti smanjenju broja djece s upalama uha, a time i broja djece s perzistentnim sekretornim otitisom koji zahtijeva kirurško liječenje.[6,7] Upala srednjeg uha najčešće je uzrokovana virusima koji naseljavaju sluznicu nazofarinksa, virus SARS-CoV-2 također naseljava sluznicu nazofarinksa i orofarinksa, no nepoznavanje patogenog djelovanja ovog virusa na sluznicu srednjega uha[7] predstavlja prijepor u postavljanju ove pretpostavke. Cilj ove studije bio je usporediti rezultate četiri godine prije proglašenja pandemije s rezultatima nakon proglašenja pandemije bolesti COVID-19.

Metode

U retrospektivnu studiju uključena su djeca operativno liječena adenotomijom i miringotomijom s postavljanjem ventilacijskih cjevčica od 1. siječnja 2017. do 31. prosinca 2020. godine zbog jednostranog ili obostranog sekretornog otitisa. Prema smjernicama[4,5] ventilacijske cjevčice postavljamo u slučaju česte akutizacije sekretornog otitisa, ukoliko postoji obostrana provodna nagluhost > 30 dB na boljem uhu, u djece sa smetnjama ravnoteže, u slučaju prisutnosti retrakcijskih džepova u *pars flaccida* ili *pars tensa*, te u djece s usporenim razvojem govora i kraniofacijalnim malformacijama.[4] Kirurško je liječenje indicirano ako smetnje traju dulje od tri mjeseca. Studija isključuje djecu s recidivirajućim sekretornim otitisom, koja imaju provodnu nagluhost izazvanu kroničnom upalom srednjeg uha, s rascjepom nepca i s timpanometrijskim oblikom krivulje C. Svako je dijete pregledano otomikroskopski, potom je bolesniku učinjena timpanometrija (*Titan by Interacustic*), tonska audiometrija (*Grason Stadler Audiostar Pro gsi*) ukoliko je dob djeteta dozvoljavala suradnju s ispitivačem, te im je učinjena fiberendoskopija kako bismo utvrdili stupanj opstrukcije epifarinksa povećanim adenoidnim vegetacijama.

Kriteriji za adenoidektomiju i postavljanje ventilacijskih cjevčica:

- povećane adenoidne vegetacije (gradus II i III);
- učestali adenoiditis;
- timpanometrijski tip krivulje B (niska podatljivost bez vidljivog vrha);
- karakterističan otomikroskopski nalaz;
- tonski audiogram koji je pokazivao obostranu provodnu nagluhost s gubitkom sluha na boljem uhu > 30 dB.

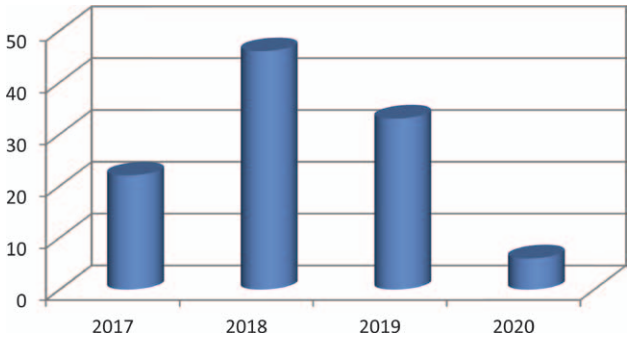
Sva su djeca prethodno liječena insuflacijskom metodom (balonima *Otovent*), a u slučaju dokazane alergije intranazalnim kortikosteroidnim sprejevima i antihistaminicima u obliku sirupa te granulama acetilcisteina 2 x dnevno. Budući da je kod sve djece i nakon tri mjeseca uslijedio negativan odgovor na takav oblik liječenja, podvrgnuta su operativnom zahvatu, adenoidektomiji s postavljanjem ventilacijskih cjevčica u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC-a Osijek.

Ispitanici

U studiju je uključeno 107 djece u dobi od 4 do 13 godina sa sekretornim otitisom koja su operativno liječena adenotomijom i miringotomijom s postavljanjem ventilacijskih cjevčica od 1. siječnja 2017. do 31. prosinca 2020. godine u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC-a Osijek.

Rezultati

U našu retrospektivnu studiju uključili smo 107 pacijenata pedijatrijske populacije koji su liječeni konzervativno u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC-a Osijek minimalno tri mjeseca prije odluke o operativnom liječenju koje je obuhvaćalo miringotomiju uz postavljanje ventilacijske cjevčice u istostrano uho. Retrospektivno smo prikupili podatke za četiri godine: 2020., 2019., 2018. i 2017. (slika 1). Tijekom 2017. godine obavljene su 22 adenotomije s miringotomijom uz postavljanje ventilacijskih cjevčica, dok 2018. godine bilježimo najveći broj operativ-



Slika 1. Broj operacija od 2017. do 2020. godine
Figure 1. Number of operations from 2017 to 2020

nih zahvata, njih 46. Godinu dana kasnije, 2019. godine, učinjene su 33 operacije, a potom 2020. godine vidimo drastičan pad: samo šest izvedenih operacija. Najveću razliku u broju operativnih zahvata zabilježili smo uspoređujući 2018. i 2020. godinu. Uspoređujući te dvije godine zaključujemo da je 2020. godine bilo izvedeno 87% manje adenoidektomija s miringotomijom i postavljanjem ventilacijskih cjevčica.

Rasprava

Sekretorni otitis često nastaje kao posljedica akutne upale srednjeg uha. U gotovo 90% slučajeva dolazi do samoizlječenja. Ako potraje dulje od tri mjeseca govorimo o perzistirajućem sekretornom otitisu koji zahtijeva kirurško liječenje. Učestale upale srednjega uha podržavaju zadržavanje sekreta u srednjem uhu i otežavaju mogućnost samoizlječenja.[5] Sekretorni otitis uzrokuje provodnu nagluhost u djece.[4,5] Znajući da je ključno razdoblje za razvoj govora vrtićka dob, najintenzivnije do četvrte godine života kada se najčešće javlja sekretorni otitis, u prioritetne zahvate ipak smo uključili adenotomiju s postavljanjem ventilacijskih cjevčica s ciljem liječenja sekretornog otitisa (radi očuvanja sluha i razvoja govora i jezika u djece).[4]

Tri godine prije proglašenja globalne pandemije (2017., 2018. i 2019.) djeca su redovito pohađala dječje kolektive (vrtiće i škole) i boravila u grupama s neograničenim brojem sudionika. Osim sudjelovanja u vrtićkim i školskim kolektivima, u slobodno vrijeme sudjelovala su u brojnim aktivnostima (škole stranih jezika, sportske aktivnosti, igraonice), što je dodatno povećavalo broj kontakata. Od ožujka 2020., nakon proglašenja globalne pandemije, značajno se mijenjaju svakodnevni uvjeti u kojima borave djeca. Sukladno odluci o mjerama ograničavanja društvenih okupljanja Nacionalnog stožera civilne zaštite Republike Hrvatske[6] drastično se smanjuje broj socijalnih kontakata, djeca su uglavnom u kućnom okruženju, čime je smanjen utjecaj socijalne komponente na širenje respiratornih infekcija; time se virusne i bakterijske infekcije sporije šire, a upale srednjeg uha javljaju znatno rjeđe.[4,8] Blagim poboljšanjem epidemiološke situacije u Republici Hrvatskoj, svjesni neizvjesnosti daljnjeg tijeka pandemije, ponovno smo u lipnju naručili na kontrolni pregled šestero djece kojima je prije proglašenja pandemije bila preporučena adenotomija i miringotomija s postavljanjem ventilacijskih cjevčica. Svakom bolesniku ponovno smo učinili timpanometriju i tonsku audiometriju u namjeri da ih ponovno naručimo kao prioritetne na operativni zahvat. No rezultati su bili pomalo neočekivani, no ne s negativnim posljedicama. Naime, kod četvero djece je došlo do samoizlječenja kroničnog sekretornog otitisa te smo odustali od planiranog zahvata, stoga je bila učinjena samo adenotomija.

Zanimljivo je da su sva djeca bila naručena na operativno liječenje prije ožujka, uključujući i djecu kod koje je došlo do samoizlječenja. Dolaskom ljeta očekivano je bio manji broj bolesnika s upalama srednjeg uha. U listopadu, s ponovnim pogoršavanjem epidemiološke situacije uslijed značajnog porasta broja oboljelih od bolesti COVID-19, ponovno su uvedene strože mjere o ograničavanju okupljanja. No, unatoč značajnom porastu broja zaraženih virusom SARS-CoV-2, nije došlo do porasta broja djece s akutnim upalama srednjeg uha[8,9], a posljedično ni do porasta broja djece kod kojih je bilo indicirano kirurško liječenje zbog sekretornog otitisa.

Usporedbom podataka iz 2020. godine s podatcima iz 2017., 2018. i 2019. godine zaključujemo da je nacionalno zatvaranje zbog pandemije bolesti COVID-19 značajno pogodovalo zdravlju djece[10,11] te je neusporedivo manji broj djece čija je klinička slika zahtijevala postavljanje ventilacijskih cjevčica u odnosu na godine prije pandemije.

Pretpostavljamo da su razlozi tomu značajno manji broj virusnih i bakterijskih infekcija[11,12] koje uzrokuju upale srednjeg uha u djece zbog nemogućnosti kolanja uzročnika infekcije unutar populacije, zatim provođenje preventivnih mjera, prije svega primjena osobnih zaštitnih sredstava (zaštitnih maski), pojačane mjere osobne higijene (pranje ruku), prozračivanje prostorija. Ne smijemo zanemariti niti činjenicu da su se roditelji rjeđe odlučivali za posjet liječniku za vrijeme pandemije, osobito ako se radilo o umjerenim i blažim smetnjama.[12]

Bolest COVID-19 i prisutnost virusa na sluznici nazofarinksa nije u značajnom broju pogodovala razvoju akutne upale srednjeg uha u djece.[7] Bolest COVID-19 nije dovela do porasta broja bolesnika dječje dobi u otorinolaringološkim ordinacijama, niti je dovela do povećanja broja djece s perzistirajućim sekretornim otitisom, što je u skladu s malobrojnim istraživanjima o prisutnosti virusa SARS-CoV-2 u sekretu srednjeg uha.[7]

Zaključci

Drastično smanjenje aktivnosti za vrijeme nacionalnog zatvaranja, ostanak i školovanje od kuće, potenciranje pravilnog i redovitog provođenja osobne higijene pridonijeli su smanjenju učestalosti jedne od najčešćih infekcija u djece, akutne upale srednjeg uha, što potom za posljedicu ima i pozitivan učinak na smanjenje učestalosti razvoja sekretornog otitisa media u djece. Usporedbom s prethodne tri godine došlo je do značajnog pada broja djece koja zahtijevaju kirurško liječenje. Ovo je prva retrospektivna studija o utjecaju nacionalnog zatvaranja na smanjenje potrebe za kirurškim liječenjem perzistirajućega sekretornog otitisa u djece.

LITERATURA

1. *World Health Organisation.* WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 [Internet] 11 March 2020. Dostupno na: https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at. Pristupljeno: 14. veljače 2021.
2. *Vlada Republike Hrvatske.* Odluka o proglašenju epidemije bolesti COVID-19 uzrokovane SARS-CoV. [Internet] Dostupno na: https://zdravstvo.gov.hr/UserDocsImages/2020%20CORONAVIRUS/ODLUKA%20O%20PROGLA%C5%A0ENJU%20EPIDEMIJE%20BOLESTI%20COVID-19. Pristupljeno: 14. veljače 2021.
3. *Torretta S, Capaccio P, Gaffuri M, Gaini LM, Borin M, Maruca A i sur.* ENT management of children with adenotonsillar disease during COVID-19 pandemic. Ready to start again? Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2020;138:110145.
4. *Velepič M, Baudoin T, Kovač Bilić L.* Smjernice za sekretorni otitis kod djece. Med Jad. 2020;50(3):257–60.
5. *Rosenfeld RM, Shin JJ, Schwartz SR, Coggins R, Gagnon L, Hackell JM i sur.* Clinical Practice Guideline: Otitis Media with Effusion (Update). Otolaryngol Head Neck Surg. 2016; 154(1 Suppl):S1–S41.
6. *Stožer civilne zaštite Republike Hrvatske.* Odluka o mjerama ograničavanja društvenih okupljanja, rada u trgovini, uslužnih djelatnosti i održavanja sportskih i kulturnih događanja [Internet], 19. ožujka 2020. Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2020_03_32_713.html. Pristupljeno: 14. veljače 2021.
7. *Mohan S, Workman A, Barshak M, Welling DB, Abdul-Aziz D.* Considerations in Management of Acute Otitis Media in the COVID-19 Era. Ann Otol Rhinol Laryngol. 2020;34894209 58443.
8. *Torretta S, Capaccio P, Coro I, Bosis S, Pace ME, Bosi P i sur.* Correction to: Incidental lowering of otitis-media complaints in otitis-prone children during COVID-19 pandemic: not all evil comes to hurt. Eur J Pediatr. 2021;180(2):653.
9. *Aldè M, Di Berardino F, Marchisio P, Cantarella G, Ambrosetti U, Consonni D i sur.* Effects of COVID-19 Lockdown on Otitis Media With Effusion in Children: Future Therapeutic Implications. Otolaryngol Head Neck Surg. 2021;165(5):710–5.
10. *Chorney SR, Elden LM, Giordano T, Kazahaya K, Rizzi MD, Zur KB i sur.* Algorithm-Based Pediatric Otolaryngology Management During the COVID-19 Global Pandemic: A Children's Hospital of Philadelphia Clinical Consensus. Otolaryngol Head Neck Surg. 2020;163(1):25–37.
11. *Angoulvant F, Ouldali N, Yang DD, Filser M, Gajdos V, Rybak A i sur.* Coronavirus Disease 2019 Pandemic: Impact Caused by School Closure and National Lockdown on Pediatric Visits and Admissions for Viral and Nonviral Infections – a Time Series Analysis. Clin Infect Dis. 2021;72(2):319–322.
12. *McBride JA, Eickhoff J, Wald ER.* Impact of COVID-19 quarantine and school cancelation on other common infectious diseases. Pediatr Infect Dis J. 2020;39(12):e449–e452.

Vijest | News

Hrvatsko društvo umirovljenih liječnika
Hrvatskoga liječničkog zbora
HDUL HLZ

Pozivamo umirovljene liječnike da nam se pridruže!

- stručna predavanja
- druženje uz kavu
- izleti
- kulturne manifestacije
- pomoć potrebitim kolegama
- u pripremi IV. knjiga HDUL
- rješavanje naših problema

Pridruži se! Budi naš član!

Informacije i kontakti: zoricicletoja@gmail.com 091 7271041; kaiczvonimir@gmail.com 099 6460878; mat.janec949.mm@gmail.com 091 5133793; brinarpeter@gmail.com 098 350108

Dr. sc. Ivka Zoričić-Letoja
Predsjednica HDUL HLZ

In memoriam | Obituaries



Prim. dr. sc. Gordana Kaić
[1965. – 2021.]

Doviđenja, dragi, doviđenja;
ti mi prijatelju jednom bješe sve.
Urečen rastanak bez našeg htijenja
obećava i sastanak, zar ne?

Jesenjin, 1925.

Dana 4. listopada 2021. zauvijek nas je napustila naša prim. dr. sc. Gordana Kaić, klinička citologinja, suradnica, učiteljica, voditeljica i prijateljica.

Prim. dr. sc. Gordana Kaić rođena je 1965. godine. Na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu diplomirala je 1990. godine. Nakon pripravničkog staža i položenog stručnog ispita zaposlila se u Domu zdravlja Zaprešić. Specijalizaciju iz Kliničke citologije započela je 1995. u KBC-u Sestre milosrdnice. Od 1996. nastavlja specijalizaciju na Odjelu za kliničku citologiju i citometriju Kliničke bolnice Dubrava. Specijalistički ispit iz kliničke citologije položila je 2000. godine. Od siječnja 2012. prelazi u Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku Kliničke bolnice Merkur, gdje od 2016. obnaša dužnost voditeljice Odjela za aspiracijsku i neginekološku eksfolijativnu citologiju, a od 2018. dužnost v. d. pročelnice Zavoda.

Područja posebnoga stručnog i znanstvenog interesa bila su joj maligne bolesti, posebno hematološka citodijagnostika, interdisciplinarni pristup i translacijska medicina. Sudjelovala je u nekoliko znanstveno-istraživačkih projekata financiranih od Ministarstva znanosti i obrazovanja: 1996. – 2002. *Citološka dijagnostika PIN-a* (glavni istraživač: Željka Znidarčić, KB Dubrava); 2002. – 2006. *Značaj biopsije sentinel limfnog čvora kod melanoma i karcinoma dojke* (glavni istraživač: Sandra Stanec, KB Dubrava); 2007. – 2011. *Uloga neutrofila i oksidacijskog stresa u operacijama kolorektalnog karcinoma* (glavni istraživač: Igor Stipančić, KB Dubrava) te Hrvatske zaklade za znanost: 2017. – 2021. *Prognostička vrijednost i dinamika cirkulirajuće mikroRNA u visokorizičnom mijelodisplastičnom sindromu liječenom 5-azacitidinom* (glavni istraživač: Slobodanka Ostojić Kolonić, KB Merkur).

Njeni znanstveni radovi obuhvaćali su primjenu novih tehnologija na citološkim preparatima, često je i sama usavršavala nove tehnologije. Magistarski rad obranjen na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (2005.) *Morfometrijska analiza jezgre i nukleolarnog organizatora (NOR-a) u diferencijalnoj dijagnostici premalignih i malignih lezija prostate* osigurao joj je status eksperta u području citologije prostate, što je prepoznato i na međunarodnom nivou te je kao pozvani predavač mogla svoje bogato iskustvo prezentirati na Europskom citološkom kongresu u Turskoj 2011. godine. Doktorska disertacija obranjena na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (2012.) *Povezanost broja FOXP3+ limfocita u citološkim otiscima sentinel limfnih čvorova s prognostičkim čimbenicima kod bolesnika oboljelih od melanoma kože* originalan je znanstveni doprinos u području istraživanja uloge regulacijskih limfocita T u modulaciji protutumorske imunosti i metastaziranju melanoma s ciljem primjene tih znanja u kliničkoj praksi. Zvanje primarijusa dodijelilo joj je Ministarstvo zdravstva 2013., a 2014. je izabrana u zvanje znanstvenog suradnika na Sveučilištu u Zagrebu.

Imala je iznimnu energiju radeći u multidisciplinarnoj grupi za bolesti glave i vrata (KB Merkur). Pod voditeljstvom prof. dr. sc. Mariastefanie Antice (IRB), bila je jedna od suradnica projekta HERO *Telemedicina – praćenje oporavka za hematološke bolesti* (interaktivna mrežna stranica namijenjena hematološkim bolesnicima s informacijama o pandemiji COVID-19). Projekt HERO, punog naziva *Healthcare Online* odnosno *Skrb za zdravlje putem e-sučelja*, financiran je u sklopu poziva *Central European Initiative COVID-19 Extraordinary Call for Proposals 2020.* Uz znanstvenike iz Instituta Ruđer Bošković u projektu sudjeluju liječnici i stručnjaci Kliničke bolnice Merkur, CERRM – Medicinskog fakulteta i Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te Otvorenog među-

narodnog sveučilišta *Ukraina* u Kijevu, Sveučilišta Connecticut u SAD-u te Medicinskog fakulteta Sveučilišta *La Sapienza* u Rimu, Italija.

Cijeloga radnog vijeka radila je na sustavnoj izobrazbi kadrova iz citologije. Sudjelovala je u nastavi više poslijediplomskih studija na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu: na Sveučilišnom poslijediplomskom studiju *Klinička citologija*; Sveučilišnom poslijediplomskom specijalističkom studiju *Patologija i citologija* te Sveučilišnom poslijediplomskom specijalističkom studiju *Hematologija* kao nastavnik te voditelj ili suvoditelj kolegija iz hematološke i gastroeneterološke citologije, što je radila s veseljem i uz visoke ocjene polaznika. Predavala je i studentima na Integriranom preddiplomskom i diplomskom studiju medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u izbornom kolegiju *Gdje je granica između embriogeneze i kancerogeneze?*. U nastavi kolegija *Citološke i histološke tehnike* za zdravstveno-laboratorijske tehničare na Zdravstvenom učilištu u Zagrebu davala je svoj maksimum, bilo da se radilo o predavanju ili strpljivom podučavanju uz mikroskop. Bila je mentorica diplomskih radova na Zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu te mentorica specijalizantima iz patologije i citologije.

Prelaskom u Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku Kliničke bolnice Merkur raste njen interes za hematološku citologiju, posebno za citološku dijagnostiku povećanoga limfnog čvora te citodijagnostiku mijelodisplazija. Bila je članica Radne skupine za mijelodisplastični sindrom Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (KROHEM), koja je zajedno s Referalnim centrom Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske za dijagnostiku i liječenje mijelodisplastičnog sindroma te Hrvatskim hematološkim društvom Hrvatskoga liječničkog zbora izradila hrvatske smjernice za dijagnozu i liječenje mijelodisplastičnog sindroma (MDS) objavljene u *Liječničkom vjesniku*, čiji je bila koautor. Bila je prva autorica i prva voditeljica Referentnog centra Ministarstva zdravstva za citološku dijagnostiku limfnog čvora dodijeljenog Zavodu za kliničku citologiju i citogenetiku Kliničke bolnice Merkur (12. 8. 2020.). Objavila je kao autorica ili koautorica na desetke znanstvenih i stručnih radova u znanstvenim časopisima s međunarodnim uredništvom i međunarodnom recenzijom koji su citirani i indeksirani u relevantnim bazama podataka: *Current Contents* (CC), *WoS*, *Scopus*. Sudjelovala je kao pozvani predavač na Europskim citološkim kongresima (Istanbul 2011., Cavtat 2012., Madrid 2018.), bila je moderatorica okruglih stolova, članica ili predsjedateljica sekcija, aktivna sudionica na brojnim skupovima, simpozijima te ostalim međunarodnim i domaćim kongresima s objavljenih više od pedeset kongresnih sažetaka u časopisima i zbornicima skupova.

S velikim entuzijazmom pristupala je organizaciji rada u Zavodu za kliničku citologiju i citogenetiku (ZKCC) KB Merkur, ali i kao članica Organizacijskih odbora nacionalnih citoloških kongresa (2016. i 2021.) i Europskoga citološkog kongresa (Cavtat 2012.), organizaciji Simpozija povodom obljetnica Odjela za kliničku citologiju i citometriju KB Dubrava (2001.) i Zavoda za kliničku citologiju i citogenetiku KB Merkur (2015.). Sudjelovala je kao organizatorica i/ili predavačica na tečajevima trajnog usavršavanja: *Klinička (neginekološka) citologija u svakodnevnoj praksi*, KB Dubrava (1998.); *Citomorfologija i dodatne tehnologije u dijagnostici povećanog limfnog čvora*, KB Merkur (2018.); *Citomorfološka analiza u dijagnostici mijelodisplastičnog sindroma* na tečaju trajnog usavršavanja Hrvatske komore biokemičara *Multidisciplinarni pristup u dijagnostici mijelodisplastičnog sindroma* (2019.) te neprekidno od 2000. do 2014. kao predavačica na tečajevima trajnog usavršavanja citotehnologa u organizaciji Ministarstva zdravstva i Hrvatskog društva za kliničku citologiju HLZ-a.

Istaknula se u dugogodišnjem društvenom radu. Bila je članica Hrvatskoga liječničkog zbora od 1991. godine, članica Hrvatskoga katoličkog liječničkog društva od njegova osnivanja (1991.), na čijim stranicama stoji: *"Kao što je u osobnom i profesionalnom životu tiho i samozatajno pomagala ljudima u potrebi, tako nas je 4. listopada 2021. godine tiho i samozatajno napustila naša draga kolegica Gordana Kaić. Počivala u miru Božjem!"*. Od 1996. bila je članica Hrvatskog društva za kliničku citologiju HLZ-a, gdje je bila vrlo aktivna (članica Upravnog odbora 2009. – 2013., II. dopredsjednica 2013. – 2017.) te su se kolege biranim riječima oprostili od nje: „*Prošli tjedan nas je napustila draga kolegica prim. dr. sc. Gordana Kaić, dr. med. Preran je njen odlazak, a bol i praznina uvukla se duboko u sva naša srca. Naša Goga voljela je život, voljela je svoju obitelj, voljela je citologiju, neizmjerno i odano. Prisjetimo se zajedno Goge u spomenaru naših zajedničkih skupova i druženja. Uvijek ćemo te pamtiti, draga Goga! Hrvatsko društvo za kliničku citologiju HLZ*". Bila je i članica Hrvatskoga hematološkog društva HLZ-a i članica Hrvatske udruge hematologa (KROHEM).

Prim. dr. sc. Gordana Kaić je svojom osebujnom osobnošću unosila u radno okruženje dio svoga bogatog stručnog iskustva i organizacijskih sposobnosti, entuzijazam i upornost te nadasve iskrenu

znanstvenu znatiželju. Blagošću i toplom ljudskom riječju pokazala se kao iskren, odan i pažljiv prijatelj. Za života se žurila napraviti što više i u teškim trenucima, osobito u zadnjim mjesecima kada je znala da će morati prerano otići, niti u jednom trenutku nije se prepustila samosažalijevanju, već je svu energiju uložila u dovršavanje poslova. Molekularno/citogenetski laboratorij u sklopu Zavoda za kliničku citologiju i citogenetiku KB Merkur, kojemu je posvetila svoje zadnje dane, dobio je svoj sjaj, projekti su završeni, ali ostala su nedovršena predavanja na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu studentima i polaznicima poslijediplomskih specijalističkih studija. Ostali su uskraćeni i specijalizanti kojima je nesebično prenosila svoje znanje.

Snagu kojom se Gordana nosila s bolešću i spoznajom preranog odlaska možda na najbolji način opisuje poruka koju je dva tjedna prije smrti poslala prijateljici, koja je plačem dala oduška emocijama: „*O, draga moja, ne smiješ tražiti tako jaku kontrolu od sebe. Ja sam si pred par mjeseci bila rekla da ni jednom neću zaplakati jer nema razloga za to. Lijepo mi je i u stvari živim najljepše mjesece svoga života. Međutim, nema razloga uskraćivati si niti tako plemenite emocije. Mislim da pomažu i olakšavaju neke trenutke. Sve je to za ljude. I da, i dalje mislim da sve skupa puno teže pada našim najdražima, nego nama koji smo se pozdravili i idemo na potpuno izvjesno putovanje*“.

Preranom smrću prim. dr. sc. Gordane Kaić izgubili su svi: kolege, studenti, prijatelji, a najviše njena obitelj koju je obožavala. Njezin nemirni duh i znatiželja nisu priznavali strah od nepoznatog, a sadašnje i buduće generacije svjedočit će o njenoj neprolaznosti, kao što je rekao L. Arreat: „*Veliki ljudi počinju živjeti tek poslije smrti*“.

Hvala, draga Goga, što smo imali priliku biti Tvoji suradnici i prijatelji. Živjet ćeš u našim sjećanjima kao neizbrisiv podsjetnik na dobrotu, radost stvaranja i nesebičnog darivanja najpotrebitijima, onog najvrjednijeg što čovjek ima, samoga sebe!

Uime najbližih suradnika

prim. dr. sc. Karmela Šentija, dr. med.
Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku Kliničke bolnice Merkur



Dr. Dragomir Dokmanović
[19. 8. 1940. – 12. 2. 2022.]

Što je čovjek? Što je trajnost i smisao života?
Prema vječnosti, naše su godine
kap vode ili zrnce pijeska...

Imam čast oprostiti se od uglednoga ogulinskog liječnika dr. Dragomira Dokmanovića, specijalista ginekologije i opstetricije. Pripadao je plejadi poznatih ogulinskih liječnika koja polako nestaje i iza koje ostaje nostalgija i uspomena na pregalački rad u teškim, ponekada grubim radnim i životnim uvjetima. Malobrojni su još liječnici koji su živi svjedoci tog vremena, ostali su se istopili kao „uje u svići". Drago je svojim djelovanjem obilježio značajan period u radu ogulinske ginekologije.

Sjećam ga se onakva kakav je bio u svakodnevnom životu i u operacijskoj sali. Dr. Dokmanović bio je liječnik kojemu sam na početku svoje karijere predala dokumente za posao, a sada sam u mirovini i opraštam se od cijenjenog kolege. Hitar, brzog koraka, otvoren za razgovor i suradnju, pouzdani operater s rukama vrijednim divljenja. U operacijskoj sali bio je usredotočen na posao, miran, stručan, bez napetosti i suvišnih radnji. Radio je s veseljem i lakoćom, tako da nismo imali osjećaj težine posla ili da se muči. Posebno su drage i dirljive uspomene na operativno završene porode, kada bi nakon vađenja djeteta nastupila opća veselost i popuštanje napetosti. Svijet je uvijek iznova stvoren kada se rodi dijete. Poziv ginekologa u sebi nosi veliku odgovornost, teret, ali i beskrajnu radost i veselje. Dr. Dokmanović najbolje je funkcionirao u najvećem naporu i kada je imao najviše posla. Tada je pokazivao svoj smisao organizatora i pravog zaljubljenika u svoj poziv. Stresan poziv ostavlja tragove i dalekosežne posljedice koje se naknadno osjećaju. Tako je i Drago u mirovini osjećao posljedice svoga napornog stresnog poziva.

Navest ću kratki životopis:

Rodio se 19. kolovoza 1940. godine u mjestu Lapat, općina Plaški. Osnovnu školu završio je u Plaškom, a gimnaziju u Ogulinu. Diplomirao je na Medicinskom fakultetu u Zagrebu 1969. godine. Prvo radno mjesto bilo mu je u Zdravstvenoj stanici Plaški, gdje je radio do 1. siječnja 1977., kada se zapošljava u Medicinskom centru Ogulin. Specijalizaciju iz ginekologije i opstetricije završio je 28. prosinca 1978. godine. U braku s prvom suprugom Lidijom dobio je dvoje djece: kćer Ljiljanu i sina Radu. Šef ginekologije bio je od 22. svibnja 1986. do 9. studenog 1991. te ponovno od 27. studenog 1996. godine do odlaska u mirovinu 31. prosinca 2005. godine. U svom radnom vijeku obavljao je i posao direktora OOUR-a poliklinički-konzilijarne stacionarne zaštite. Najveća mu je ljubav bila obitelj, a slobodno vrijeme ispunjavao je svojim hobijima: šahom, ribolovom, nogometom. Posebnu ljubav imao je prema gradnji i popravljanju kuća. Bio je pasionirani sakupljač starog oružja. Nakon odlaska u mirovinu kraće je vrijeme honorarno radio u bolnici u Gospiću. Nakon toga povukao se u sebe, udaljio se od ljudi i postao gotovo nevidljiv i tih. Živio je povučeno, okružen ljubavlju svoje obitelji, druge supruge Dubravke, djece Ljiljane i Rade, unuka Borisa, Nikole i Agathe. Rijetko smo se viđali, samo u prolazu. Život je kao trka u kojoj nema pobjednika, a svatko od nas sići će na svojoj stanici. Ostale su uspomene na dragoga pouzdanog kolegu i vrsnog ginekologa kojega ne želimo zaboraviti.

Počivao u miru Božjem!

Obitelji, rodbini i prijateljima upućujemo iskrenu sućut.

Dr. sc. Danijela Tomić,
spec. anesteziolog u mirovini