

- 3** Biotehnoški pristopi za zdravljenje debelosti – *Veronika Cencen, Jernej Kovač, Simon Horvat, Primož Kotnik*
- 13** Hiperkaliemija – vzroki, klinična slika in zdravljenje – *Petra Novak, Vanja Peršič*
- 23** Anatomija in klinični pomen anterolateralne vezi kolenskega sklepa – *Nik Žlak, Luka Vitez, Marija Hribernik, Matej Drobnič*
- 31** Novejše oblike elektrostimulacije srca – *Mark Jovanović, Marta Cvijić*
- 43** Perkutana vstavev zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus: nova metoda zdravljenja odporne angine pektoris – *Črt Langel, Miha Mrak, Matjaž Bunc*
- 55** Strupene kače v Sloveniji – sestava in delovanje njihovega strupa – *Vid Leban, Miran Brvar, Igor Križaj, Adrijana Leonardi, Katarina Černe*
- 75** Tehnike odstranitve nebnic – *Klara Mihelič*
- 83** Hemofagocitna limfohistiocitoza – *Nik Krajnc, Janez Jazbec*
- 93** Pljučna histiocitoza Langerhansovih celic in pasivno kajenje - pregled literature in klinični primer – *Maja Badovinac, Barbara Salobir, Marjeta Terčelj-Zorman*
- 101** Sindrom maščobne embolije in prikaz primera – *Alja Gabrilo, Primož Gradišek*
- 111** Diagnostični izziv
- 115** Novice
- 123** Seznam diplomantov
- 125** Navodila avtorjem
- 131** Guidelines for Authors

MEDICINSKI RAZGLEDI

Biomedicinski raziskovalni, strokovni in pregledni članki

UREDNIŠTVO

Društvo Medicinski razgledi
Korytkova ulica 2
1000 Ljubljana
Slovenija

T (01) 524 23 56 **F** (01) 543 70 11
E info@medrazgl.si
S www.medrazgl.si
POR: 02014-0050652588

GLAVNA UREDNICA

Tjaša Gortnar

ODGOVORNI UREDNIK

Anžej Hladnik

TEHNIČNI UREDNIKI

Maša Majcen, Jurij Martinčič,
Samo Roškar, Gašper Tonin

UREDNIŠKI ODBOR

Nina Kobal, Vanesa Koračin, Katja
Kores, Ana Karin Kozjek, Nik Krajnc,
Irena Krapež, Anita Meglič, Jure Puc,
Lana Vodnik, Nika Vrabič, Ines Žabkar,
Nika Žagar, Sandra Žunič

LEKTORJI

Kristijan Armeni, Anja Draksler, Mateja
Hočevar Gregorič, Lučka Zorko

LEKTORJA ZA ANGLEŠKI JEZIK

Kristijan Armeni, Lucija Skarlovnik

PRELOM

SYNCOMP d. o. o.

TISK

Nonparel d. o. o.

FOTOGRAFIJA NA NASLOVNICI

Jurij Martinčič

MEDICINSKE RAZGLEDE

ABSTRAHIRAJO IN/ALI INDEKSIRAJO

Biological Abstracts, Biomedicina
Slovenica, Bowker International,
Chemical Abstracts, Nutritional
Abstracts

PODPORNIKI

Medicinska fakulteta UL
Javna agencija za raziskovalno
dejavnost RS

Revija izhaja štirikrat letno v 1.800 izvodih.

Cena izvoda je **6 €**, za študente **4 €**, za ustanove **10 €**.

COPYRIGHT © MEDICINSKI RAZGLEDI 2019

Vse pravice pridržane. Razmnoževanje ali razširjanje posameznih delov ali celotne publikacije s katerimkoli sredstvom brez pisnega privoljenja založbe je prepovedano.

- 3** Biotehnološki pristopi za zdravljenje debelosti – *Veronika Cencen, Jernej Kovač, Simon Horvat, Primož Kotnik*
- 13** Hiperkaliemija – vzroki, klinična slika in zdravljenje – *Petra Novak, Vanja Peršič*
- 23** Anatomija in klinični pomen anterolateralne vezi kolenskega sklepa – *Nik Žlak, Luka Vitez, Marija Hribernik, Matej Drobnič*
- 31** Novejše oblike elektrostimulacije srca – *Mark Jovanović, Marta Cvijić*
- 43** Perkutana vstavev zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus: nova metoda zdravljenja odporne angine pektoris – *Črt Langel, Miha Mrak, Matjaž Bunc*
- 55** Strupene kače v Sloveniji – sestava in delovanje njihovega strupa – *Vid Leban, Miran Brvar, Igor Križaj, Adrijana Leonardi, Katarina Černe*
- 75** Tehnike odstranitve nebnic – *Klara Mihelič*
- 83** Hemofagocitna limfohistiocitoza – *Nik Krajnc, Janez Jazbec*
- 93** Pljučna histiocitoza Langerhansovih celic in pasivno kajenje - pregled literature in klinični primer – *Maja Badovinac, Barbara Salobir, Marjeta Terčelj-Zorman*
- 101** Sindrom maščobne embolije in prikaz primera – *Alja Gabrilo, Primož Gradišek*
- 111** Diagnostični izziv
- 115** Novice
- 123** Seznam diplomantov
- 125** Navodila avtorjem
- 131** Guidelines for Authors

Veronika Cencen¹, Jernej Kovač², Simon Horvat³, Primož Kotnik⁴

Biotehnoški pristopi k zdravljenju debelosti

Biotechnological Strategies in Treatment of Obesity

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: debelost, biotehnologija, rekombinantna zdravila, gensko zdravljenje

Debelost je klasična večvzročna pogojena bolezen. Poleg vpliva okolja ima pomembno vlogo pri njenem nastanku tudi dednost. Debelost je le redko monogensko pogojena, opredeljenih pa je bilo tudi že več 100 genov in mest v genomu, ki vsak v majhnem deležu sodelujejo pri razvoju mnogo pogostejše poligenske debelosti. Debelost pri otrocih in mladostnikih predstavlja kratko- in dolgoročno ogroženost za zaplete. Običajni načini zdravljenja so žal le delno učinkoviti. Povečevanje pogostosti debelosti povečuje potrebo po izdelavi novih strategij zdravljenja. Biotehnoške metode predstavljajo pomembno orodje za razvoj teh strategij. V članku so predstavljene biotehnoške metode, ki so trenutno že uporabljene za pripravo učinkovin in metod za zdravljenje debelosti. Razpravljamo o njihovi učinkovitosti in varnosti ter o možnostih za dodatni razvoj. Predstavljamo tudi novejši biotehnoški metode, ki trenutno še niso v uporabi za zdravljenje debelosti, a imajo ta potencial. Razpravljamo tudi o dodatnih možnostih uporabe biotehnoških metod za opredelitev tarčnih genov in mehanizmov, ki vodijo v debelost.

ABSTRACT

KEY WORDS: obesity, biotechnology, recombinant drug therapy, gene therapy

Obesity is a complex multifactorial disease. Both genetics and environmental factors play a major role in the development of obesity. It is rarely monogenic and several 100 of genes and loci, each having a minor effect, have been associated with the polygenic form. Obesity in children and adolescents presents a short and long-term risk for obesity-related diseases. Classical methods of treatment are unfortunately only partially effective. The ever increasing prevalence of obesity cases calls for novel treatment strategies. Biotechnology offers several important tools for the development of these strategies. Biotechnological methods already used for the preparation of drug therapies and other methods for treating obesity are presented in the article. We discuss their efficacy and safety, and possibilities for further improvement. Novel biotechnological approaches that have not yet been used in the treatment of obesity but show potential are also discussed. Furthermore, we also explore the possibility of using biotechnological methods to determine the main target genes and mechanisms of obesity.

¹ Veronika Cencen, dipl. bioteh., Oddelek za zootehniko, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Groblje 3, 1230 Domžale

² Dr. Jernej Kovač, univ. dipl. biokem., Služba za specialno laboratorijsko diagnostiko, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana

³ Prof. dr. Simon Horvat, Katedra za genetiko, animalno biotehnologijo in imunologijo, Oddelek za zootehniko, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Groblje 3, 1230 Domžale; Odsek za sintezno biologijo in imunologijo, Kemijski inštitut, Hajdrihova ulica 19, 1000 Ljubljana

⁴ Doc. dr. Primož Kotnik, dr. med., Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in presnovne bolezni, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana; Katedra za pediatrijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana; primoz.kotnik@mf.uni-lj.si

UVOD

Debelost je pomemben javnozdravstveni problem zaradi presnovnih in nepresnovnih zapletov, s katerimi je povezana. Osnova zdravljenja je sprememba življenjskega sloga, kamor sodijo zdrava prehrana, redna in primerno intenzivna telesna dejavnost ter omejen čas, ko nismo telesno dejavni. Do sedaj razvita zdravila niso zelo učinkovita in imajo večinoma pomembne neželene učinke (1). Učinkovitejši so bariatrični posegi, a so relativno invazivni, izrednega pomena pa je tudi doživljenjsko pooperativno sledenje, zato so ti posegi primerni le za manjši delež populacije debelih (2). Zaželeni so novi pristopi k zdravljenju debelosti, ki bi bili učinkoviti in varni. S tega vidika v članku predstavljamo noveše biotehnoške metode, s katerimi bi lahko izboljšali učinkovitost in varnost že uveljavljenih zdravil in metod ter razvili nova.

METODA REKOMBINANTNE DEOKSIRIBONUKLEINSKE KISLINE ZA IZDELAVO UČINKOVIN ZA ZNIŽANJE TELESNE MASE ALI PRESNOVNO UGODNO SPREMEMBO TELESNE SESTAVE

V biotehnologiji se pogosto uporablja metoda rekombinantne DNA, s katero se izboljša učinkovitost produkta in raven proizvodnje rekombinantnih beljakovin. S plazmidom vnesemo DNA, ki kodira izbrano (človeško) beljakovino, v bakterijsko gostiteljsko celico. V celici se sintetizira beljakovina, ki sicer v naravnem sevu ne obstaja (3). Našteti je nekaj primerov uporabe te metode za izdelavo učinkovin, ki vplivajo na telesno maso in sestavo telesa.

Leptin, leptinski receptor in postreceptorske signalne poti

Odkritje hormona leptina je eno prvih in največjih odkritij, ki so vplivala na razumevanje genetskih nagnjenosti za uravnavanje telesne mase. Leptin je beljakovina, ki se tvori izključno v maščobnem tkivu. Se-

stavljen je iz 146 aminokislin, kodira ga gen *LEP*. Preko receptorja za leptin, ki ga kodira gen *LEPR*, leptin posredno sproži tvorbo anoreksigenega neuropeptida proopiomelanokortina (angl. *proopiomelanocortin*, POMC) in zavira proizvodnjo oreksigene aguti podobne beljakovine (angl. *agouti-related protein*, AgRP). Leptin naj bi deloval kot lipostat, saj se z večanjem količine maščob v maščobnih celicah sprošča v kri in povzroča občutek sitosti. Posledica pomanjkanja leptina ali mutacija v genu za leptinski receptor je zgodnja in izrazita debelost s pridruženimi zdravstvenimi zapleti. Zdravljenje z rekombinantnim leptinom je učinkovito pri zdravljenju redkih oblik debelosti, ki so posledica pomanjkanja leptina (4). Nasprotno pa je zdravljenje z rekombinantnim leptinom neučinkovito pri poligenško dedovani oz. najpogostejši obliki debelosti, kjer je pridobljena odpornost na leptin eden glavnih mehanizmov, ki vodijo v povečevanje telesne mase oz. neučinkovitost zdravljenja z leptinom (5).

Odpornost na leptin so obšli z razvojem zdravila, ki brez aktivacije receptorja za leptin deluje na njegove efektorje. Ciliarni nevrotrofični dejavnik (angl. *recombinant neurotrophic factor*, CNTF), ki ga kodira gen *CNTF*, je polipeptidni hormon in rastni dejavnik živčnih celic ter v živčnem sistemu spodbuja tvorbo živčnih prenašalcev. Pri živalskih modelih se CNTF dokazano izogne učinkom odpornosti na leptin. Rekombinantna različica ciliarnega nefrotičnega dejavnika (angl. *recombinant human variant ciliary neurotrophic factor*, rhvCNTF) z zaščitenim imenom Axokine[®], ima še izboljšano učinkovitost in farmakološke lastnosti. Veže se na receptor za CNTF in aktivira podobne znotrajcelične signalne poti kot leptin ter vpliva na spremembe apetita in telesno maso (38). Kljub dokaj veliki učinkovitosti pa ni prišel na tržišče, saj so preiskovanci razvili protitelesa proti CNTF. Ta niso le zmanjšala učinkovitosti zdravljenja, temveč bi lahko škodljivo vplivala tudi

na nevrozaščitno delovanje endogenega CNTF (7). Podjetje Xencor za razvoj zdravljenja z monoklonskimi protitelesi do sedaj še ni bilo uspešno pri razvoju analogov z manjšo imunogenostjo. Te iščejo z analizo spremenjenih epitopov alelov pglavitnega histokompatibilnostnega kompleksa II (8).

Rekombinantni človeški rastni hormon

Rastni hormon je peptidni hormon, ki spodbuja rast, delitev in obnavljanje celic. Poleg tega ima pomembne fiziološke učinke na telesno sestavo. Zmanjšuje delež maščobnega tkiva in povečuje delež nemaščobnega tkiva (mišice). Tako pri odraslih kot pri otrocih s čezmerno telesno maso je zmanjšano endogeno in spodbujeno izločanje rastnega hormona (9). Osebe s pomanjkanjem rastnega hormona pa so nagnjene k debelosti, posebej visceralni (10).

Rekombinantni človeški rastni hormon (angl. *recombinant human growth hormone*, rhGH) se uporablja za zdravljenje bolezni, ki so posledica pomanjkanja rastnega hormona ali zmanjšane občutljivosti nanj. Poudarjamo, da rhGH ni indiciran za zdravljenje debelosti. Sicer pa rhGH znižuje delež maščobnega tkiva in povečuje mišično maso brez znatne izgube skupne telesne mase (11). Zaradi teh učinkov je indiciran za zdravljenje redkega sindroma Prader-Willi, pri katerem sta poleg zmanjšanega izločanja rastnega hormona prisotni hipotalamična okvara, in debelost. Pri zdravljenju sindroma Prader-Willi z rhGH je glavni pričakovani učinek ugodna sprememba telesne sestave (12).

Zdravljenje z rhGH, predvsem v odmerkih, višjih od fizioloških, je povezano s povišanjem ravnih inzulina ter razvojem motene tolerance za glukozo in sladkorne bolezni (13). Nedavno je bilo objavljeno poročilo o povečanem tveganju za možgansko-žilni dogodek tudi pri osebah, ki so bile zdravljene s fiziološkimi odmerki rhGH zaradi nizke rasti (14). Navedeni neželeni

učinki zdravila zelo omejujejo možno uporabo rhGH za zdravljenje čezmerne telesne mase oz. za izboljšanje telesne sestave.

Kombinacijsko zdravljenje

Učinkovitost zdravljenja z zdravili lahko povečamo z ustrezno kombinacijo zdravil. V primeru debelosti je to kombinirana uporaba amilinskega analoga pramlintina, ki poveča signalizacijo z leptinom, in rekombinantnega človeškega leptina metreleptina. Kombinirana uporaba teh dveh zdravil je prestala klinične raziskave druge faze, vendar pa so nadaljnje raziskave trenutno ustavljene zaradi varnostnih razlogov (1). Metreleptin je v bakterijah *Escherichia coli* proizveden rekombinanten človeški leptinski analog, ki se veže na leptinski receptor in ga aktivira. Od naravno prisotnega človeškega leptina se razlikuje v dodatnem metioninskem ostanku naaminskem koncu. Uporaba je zelo omejena, saj obstaja nevarnost razvoja protiteles, ki bi hkrati delovala tudi na endogeni leptin, prav tako pa se poveča tveganje za razvoj limfomov (15). Čeprav znižuje raven krvnega sladkorja in izboljša stanje odpornosti na inzulin, pa pri zniževanju telesne mase ni učinkovit (16).

BIOTEHNOLOŠKE METODE ZDRAVLJENJA NA RAVNI GENOMA

Le do 5% primerov debelosti (predvsem izrazite) je pogojenih z mutacijami v enem samem genu (t. i. monogenska debelost). Nekaj pomembnejših je povzetih v tabeli 1. Pogosteje je debelost posledica skupnega učinka variabilnosti v več genih, ki jih je potrebno upoštevati, t. i. oligo- ali poligenska debelost. Do sedaj je bilo opredeljenih že več 100 genov in lokusov, ki prispevajo k tej obliki debelosti. Opredelili so jih s pomočjo asociacijskih raziskav na celotnem genomu (angl. *genome-wide association studies*, GWAS) in v zadnjem času s sekvencioniranjem celotnega genoma (17, 18).

Tabela 1. Geni, povezani z debelostjo (17).

Gen	Angleško ime gena	Slovensko ime gena	Lokacija	Funkcija beljakovine
<i>ADRB2</i>	<i>β₂-adrenoceptor, surface gene</i>	gen za površinski β ₂ -adrenergični receptor	5q31–q32	poraba energije
<i>ADRB3</i>	<i>β₃-adrenoceptor, surface gene</i>	gen za β ₃ -adrenergični receptor	8p12–p11.2	
<i>UCP1</i>	<i>uncoupling protein 1 (mitochondrial, proton carrier) gene</i>	gen za odklopno beljakovino 1 – termogenin (mitohondrijski, protonski prenašalec)	4q28–q31	
<i>UCP2</i>	<i>uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier) gene</i>	gen za odklopno beljakovino 2 (mitohondrijski, protonski prenašalec)	11q13.3	
<i>UCP3</i>	<i>uncoupling protein 3 (mitochondrial, proton carrier) gene</i>	gen za odklopno beljakovino 3 (mitohondrijski, protonski prenašalec)	11q13	
<i>CLOCK</i>	<i>clock circadian regulator gene</i>	gen za cirkadiani ritem	4q12	
<i>INS</i>	<i>insulin gene</i>	gen za inzulin	11p15.5	vnos energije
<i>LEP</i>	<i>leptin gene</i>	gen za leptin (človeški homolog debelostnega gena v miših)	7q31.3	
<i>MC4R</i>	<i>melanocortin 4 receptor gene</i>	gen za melanokortinski receptor 4	18q22	
<i>NPY</i>	<i>neuropeptide Y gene</i>	gen za neuropeptid Y	7p15.3	
<i>POMC</i>	<i>proopiomelanocortin gene</i>	gen za proopiomelanokortin	2p23.3	
<i>AGRP</i>	<i>agouti-related peptide gene</i>	gen za aguti podobno beljakovino	16q22	
<i>CARTPT</i>	<i>cocaine and amphetamine regulated transcript prepropeptide gene</i>	gen za prepropeptid kokain in amfetamin uravnavanega transkripta	5q13.2	
<i>FTO</i>	<i>fat mass and obesity associated gene</i>	gen za beljakovino, povezano z maščobnim tkivom in debelostjo	16q12.2	
<i>LEPR</i>	<i>leptin receptor gene</i>	gen za leptinski receptor	1p31	
<i>PPARγ2</i>	<i>peroxisome proliferator-activated receptor γ gene</i>	gen za γ-receptor, aktiviran s peroksisom proliferatorjem	3p25	razvoj maščobnega tkiva
<i>CEBPA</i>	<i>CCAAT^a/enhancer binding protein alpha gene</i>	gen za beljakovino za vezavo ojačevalca CCAAT ^a	19q13.11	
<i>IL6</i>	<i>interleukin 6 gene</i>	gen za interleukin 6	7p21–p15	
<i>FABP4</i>	<i>fatty acid binding protein 4, adipocyte gene</i>	gen za vezavo maščobnih kislin	8q21.13	
<i>PNPLA3</i>	<i>patatin-like phospholipase domain containing gene</i>	gen za beljakovino z domeno patatinu podobne fosfolipaze 3	22q13.31	
<i>PLIN5</i>	<i>perilipin 5 gene</i>	gen za beljakovino, povezano z maščobnimi kapljicami 5	19p13.3	

^a Zaporedje nukleotidov.

Gensko zdravljenje

Vsaj pri monogenski obliki debelosti bi z vnosom normalnega gena v tkivo, ki gen izraža, vsaj teoretično lahko spremenili okvarjeni mehanizem, ki vodi v debelost. Uporabimo lahko več metod. Najpogostejše je uporabljena metoda vnosa gena z virusnim vektorjem. Ker je več genov, povezanih z debelostjo, izraženih v osrednjem živčnem sistemu, bi bil zaželen tarčni vnos v določen del možganov. Zato bi bila uporabna specifična vrsta virusnega vektorja – adeno-povezani virusni vektor. V laboratorijskih modelih so tako s povečanjem izražanja gena levkemije-zaviralnega dejavnika (angl. *leukemia-inhibitory factor*, LIF) z vnosom preko rekombinantnega adeno-povezanega virusnega vektorja zmanjšali telesno maso, vnos hrane in stopnjo maščobnega tkiva pri miših (18). Žal so ti še vseeno povezani z manjšo stopnjo imunскеga odziva. Pomanjkljivosti uporabe virusnih vektorjev so predvsem dolgotrajnost postopkov priprave, možnost vnosa le majhnih molekul DNA, pa tudi nevarnost neželenih sprememb genoma. V ta namen iščejo še druge, sprejemljivejše sisteme genskega zdravljenja (19). Primer je cepljenje s cepivom, ki bi vsebovalo zaporedno specifične nukleaze na regije genov, povezanih z debelostjo (npr. gen *FTO*) (20).

Spreminjanje genskega zapisa z zaporedno specifičnimi nukleazami

V primerjavi s klasičnimi metodami genskega zdravljenja, ki temeljijo na uporabi adeno- ali retrovirusnih vektorjev, sodobna literatura pripisuje več možnosti za spremembe genoma za namene zdravljenja metodi zaporedno specifičnih nukleaz. Velika prednost metode je, da uporaba ni tako omejena na določene celične tipe. V primerjavi z RNAi (angl. *ribonucleic acid interference*), ki je potranskripcijski mehanizem razgradnje informacijskih ribonukleinskih kislin (angl. *messenger ribonucleic acid*, mRNA)

ali zaviranja translacije, s čimer se prepreči oz. zavre izražanje specifičnega gena, je metoda fleksibilnejša, omogoča pa tudi stabilno in dolgotrajno spremembo gena brez potrebe po stalnih transfekcijah. Princip delovanja je podoben za vse metode, ki spadajo v to skupino. Sprva DNA razcepimo na specifičnem mestu z uporabo preoblikovane endonukleaze. Do sprememb v genski zasnovi (tukaj so vključene tako delecije kot insercije in zamenjave genov) pride zaradi prisotnosti popravljalnih mehanizmov preko nehomolognega združevanja koncev ali homologne rekombinacije (21).

Najstarejša metoda v omenjeni skupini vključuje uporabo nukleaz cinkovih prstov (angl. *zinc finger nucleases*, ZFN). Gaj in sodelavci že preizkušajo to metodo neposrednega utišanja genov, povezanih z debelostjo, ki bi omogočala tudi uporabo pri ljudeh (22). V primerjavi z novejšimi metodami je zahtevnejša tudi priprava, poleg tega pa ne obstajajo cinkovi prsti za vse možne triplete nukleotidov. Novejša, potencialno uporabnejša metoda na tem področju je poznana kot nukleaze za transkripcijskemu aktivatorju podobne efektorje (angl. *transcription activator-like effector nucleases*, TALEN) (21). To so umetno proizvedeni restrikcijski encimi, pridobljeni z združevanjem vezavnih mest transkripcijskemu aktivatorju podobnega efektorja (angl. *transcription activator-like effectors*, TALE) s cepitveno domeno. TALE so izolirani iz sevov bakterij *Xanthomonas*. Tem se biotehnološko odstrani aktivatorska domena na karboksilnem koncu, na njeno mesto pa se doda nukleaza FokI. Prednost te metode pred ZFN je, da prepozna po en nukleotid in tako omogoča prepoznavanje kateregakoli zaporedja DNA. Poleg tega je vezavna domena sestavljena iz tandemske ponovljenih motivov, dolgih med 11 in 24 baznih parov, zato omogoča večjo specifičnost. Še vedno pa si z metodo ZFN deli pomanjkljivost, da zahteva izdelavo specifičnih beljakovin za vsako ciljno zaporedje DNA. To težavo odpravimo

z uvedbo usmerjevalnih RNA pri metodi CRISPR/Cas9 (21).

Metoda CRISPR/Cas9 je med omenjenimi najnovejša, čeprav se za spreminjanje zaporedij v genomu ali izražanja genov v človeških celičnih kulturah, pa tudi *in vivo* pri različnih vrstah živali, uporablja že od leta 2012. Nakopičene redno razmaknjene kratke palindromne ponovitve (angl. *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*, CRISPR) so lokusi DNA, ki vsebujejo kratke ponovitve baznih zaporedij. Prisotne so predvsem v arhejah, in sicer pri 90 % vseh sekvenciranih genomov. Prvi del sestavlja RNA samostojnega nukleotida, ki se veže na komplementarno, ciljno zaporedje DNA. Drugi del sestavlja z nakopičenimi redno razmaknjenimi kratkimi palindromnimi ponovitvami povezana beljakovina (angl. *clustered regularly interspaced short palindromic repeats associated protein*, Cas) 9 nukleaza za razrez. Z vnosom plazmida z domeno Cas ter specifično ustvarjenimi CRISPR se lahko genom organizma preureja na želenem mestu. Nekateri poskusi genske terapije z metodo TALEN in CRISPR/Cas9 na človeških celicah so obetavni. Na spodbujenih matičnih celicah bolnika z dedno obliko mišične distrofije so Li in sodelavci leta 2015 uspeli popraviti mutacijo v genu za distrofin in pokazali funkcionalnost popravljenega gena. Pomanjkljivost metode je sicer nezanesljiva specifičnost, pa tudi potreba po prisotnosti zaporedja protospresledkovnega sosednjega motiva (angl. *protospacer adjacent motif*, PAM). Prednost te najnovejše metode je, da omogoča razrez več ciljnih molekul hkrati. Obetaven nov možni način zdravljenja je tudi uporaba različice encima CRISPR povezane beljakovine 9, ki ima inaktivirano nukleazno aktivnost (angl. *CRISPR associated protein 9 endonuclease dead*, dCas9) in je lahko v povezavi z aktivatorjem ali represorjem. Taka beljakovina ohrani DNA-vezavno aktivnost in lahko povzroči večje ali manjše izražanje ciljnega gena brez povzročanja spre-

memb v sami DNA (21). Slednja lastnost je za gensko zdravljenje sprejemljivejša tudi z etičnega vidika, saj ne gre za spreminjanje dednega materiala.

Metode bi bile uporabne predvsem v primeru natančno identificiranih genov, npr. navedeni v tabeli 2, ki že sami znatno prispevajo k razvoju debelosti. Z uporabo primernih vektorjev za vnos to predstavlja zelo ugodno rešitev za težavo ciljanja specifičnih zaporedij v celicah osrednjega živčevja in periferije. Potrebna je izdelava ustreznih knjižnic ciljnih zaporedij. Uporaba metode CRISPR/Cas9 bi bila še posebej koristna za zdravljenje poligenske oblike debelosti, predvsem zaradi možnosti spreminjanja patogenih mutacij ali nepravilnega profila izražanja več genov hkrati. Preden lahko metoda pride v uporabo v medicinske namene, bi bilo potrebno zagotoviti njeno popolno varnost in zanesljivost. Predvsem bi morali poskrbeti, da so metode res specifične glede na ciljno zaporedje in da ne povzročajo imunogenosti ali rakotvornosti. Poleg tega se iščejo tudi alternativni vektorji za prenos v bolnika, ki bi nadomestili viruse.

Posredne metode spreminjanja izražanja genov z interferenčnimi ribonukleinskimi kislinami

V zadnjem desetletju je bilo veliko raziskav usmerjenih v razvoj tehnologij z uporabo interferenčnih molekul RNA. Male interferenčne ribonukleinske kisline (angl. *small interfering ribonucleic acid*, siRNA) se namreč lahko vežejo na mRNA in vplivajo na izražanje genov. Utišanje genov lahko deluje preko dveh mehanizmov: utišanje genov po prepisu (angl. *post-transcriptional gene silencing*, PTGS) ali utišanje genov med prepisom. PTGS lahko nadalje delimo še na neposredno zaporedno specifično razcepljanje in zaviranje prevajanja zaporedja ter razkroj RNA. Gene lahko ciljamo z eksogenim vnosom siRNA, ki pa nato izkoristi endogeni mehanizem PTGS. Zaradi velikosti in negativne nabitosti pa s težavo prehajajo skozi

celične membrane (19). Kljub temu so s to metodo izvedli že veliko uspešnih raziskav zdravljenja debelosti pri laboratorijskih živalih. Z uporabo interferenčnih RNA so pri kuncih uspeli utišati gen *Apobec1*, povezan z absorpcijo maščobe v črevesju, in tako zmanjšali vnos energije ter možnost razvoja debelosti (22). Metode RNAi trenutno še niso povsem varne za klinično uporabo. Težave so se pojavile pri kopičenju prenašalnih dejavnikov in delovanju na neciljne gene ter nezaželenem aktiviranju celičnega imunskega sistema (19).

UPORABA BIOTEHNOLOŠKIH METOD ZA OPREDELITEV TARČNIH GENOV IN MEHANIZMOV PRI ZDRAVLJENJU DEBELOSTI

Asociacijske raziskave na celotnem genomu

Raziskave GWAS omogočajo hkratno analizo več 1.000 polimorfizmov, ki se nato uporabijo za proučevanje interakcij med genetskimi in okoljskimi dejavniki. Njihova največja uporabnost je v tem, da lahko identificirajo gene z relativno majhnim vplivom, kar je s klasično genetiko kartiranja v družinah praktično nemogoče. Pri debelosti so pomembni predvsem geni, povezani s presnovnim sindromom, maščobnim tkivom in obsegom pasu. Z upoštevanjem okoljskih vplivov in variabilnosti genov skozi generacije so posameznikom omogočene vedno natančnejše ocene tveganja. Z GWAS so leta 2007 identificirali tudi gen *FTO*, prvi polimorfizem posameznega nukleotida z robustno povezavo z debelostjo (23).

Uporaba različic v številu kopij pri iskanju ciljnih genov

Kot pri nekaterih drugih tipih kompleksnih bolezni (zlasti psihiatričnih, avtoimunskih in nevrodegenerativnih), imajo tudi pri etiologiji debelosti pomembno vlogo različice v številu kopij genov (RŠK). Gre za obliko genomske variabilnosti, vezane na do

nekaj megabaz dolga zaporedja DNA, ki so v genomu prisotna v raznovrstnem številu kopij. Frekvenca mutacij je mnogo večja kot pri polimorfizmu posameznih nukleotidov. S kartiranjem visoke ločljivosti prekinitvenih točk je možno oceniti velikost, vpliv na gene in regulatorne elemente ter možne posledice RŠK (24). S pregledom podatkovnih baz je bilo opredeljenih več RŠK, ki vplivajo na debelost. Med novejša odkritja sodi zmanjšana prisotnost RŠK v genu *AMY1*, ki kodira amilazo v slini, katere pomanjkanje posredno prispeva k razvoju debelosti (25). Z uporabo RŠK je možno proučevati natančnejše vzroke ne le monogenih, temveč tudi sindromskih in poligenjskih oblik debelosti. To bo v prihodnosti omogočilo iskanje načinov poseganja v gene oz. presnovne poti, ki do te bolezni privedejo. Patološke spremembe bi bilo mogoče odpraviti z uvedbo genskega zdravljenja (26).

Uporaba aptamerov pri iskanju biooznačevalcev ter razvoju zdravljenja

Aptameri RNA so majhne molekule oligo-RNA, ki se lahko vežejo na specifično ciljno molekulo. Pridobiti jih je mogoče z izborom iz večjih naborov naključnih zaporedij preko *in vitro* selekcijskega postopka, imenovanega sistematska evolucija ligandov skozi poskusno obogatitev (angl. *systematic evolution of ligands by exponential enrichment*, SELEX). Aptameri, pridobljeni z metodo SELEX, omogočajo alternativni način odkrivanja biooznačevalcev za specifično prepoznavo celične površine. Zaradi boljše specifičnosti od protiteles bi bili primerni za uporabo v obstoječih metodah diagnostike, kot so encimska imunoabsorpcijska preiskava (angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) ali prenos *western* (26). Na ta način je bilo odkritih že več aptamerov, ki specifično prepoznajo odrasle maščobne celice, in med katere spadajo MA-33 in 91 (specifična za odrasle bele maščobne celice) ter adipo-1 in adipo-8 (27, 28).

Sistemska medicina: razvoj presnovnih modelov

Pri novejših pristopih k odkrivanju novih načinov zdravljenja debelosti je lahko učinkovita tudi uporaba presnovnih modelov na ravni genoma (angl. *genome-scale metabolic models*, GEM) posameznikov in posledična prilagoditev zdravljenja. GEM vsebujejo podatke o encimskih reakcijah, specifičnih za posamezno vrsto celic, tkivo ali organizem, in omogočajo analizo specifičnih reakcij in presnovnih poti ter njihovo vlogo v celični fiziologiji. Z GEM je mogoče pridobiti informacije, povezane (29):

- s presnovo,
- z obdelavo podatkov o genih in okolju,
- s celičnimi postopki,
- s človeškimi boleznimi in
- z razvojem učinkovin.

Za boljše razumevanje debelosti in njene povezave s presnovnim sindromom ter povezanimi boleznimi so se raziskovalci osredotočili na glukozno-inzulinski sistem nadzora ter vzpostavili maksimalne in minimalne modele presnove. Maksimalni modeli presnove uporabljajo velike količine parametrov za vzpostavljanje znanja o presnovnem uravnavanju, minimalni pa opisujejo glavne komponente sistemskega

delovanja (29). Tovrstna uspešna povezava bioinformatike, biotehnologije in medicine bi znatno prispevala k iskanju novih biooznačevalcev ter k razvoju na področju farmakogenomike in novih tarč zdravil.

ZAKLJUČEK

Čezmeren vnos in nezadostna poraba energije sta osnovna mehanizma, ki vodita v povečanje telesne mase oz. debelost. Učinkovitost in varnost zdravljenja debelosti (predvsem izrazite) trenutno še nista na zaželeni ravni. S tega vidika predstavlja zapleteno genetsko ozadje debelosti in zapletene interakcije med genetsko zasnovno ter okoljem veliko oviro. Biotehnoške metode že uporabljamo za opredelitev vzrokov debelosti in pri izdelavi zdravilnih učinkovin ter strategij zdravljenja. Z razvojem teh metod bomo v prihodnosti lahko razvili še boljše orodja tako za opredelitev vzrokov, ki vodijo v debelost, kot za načrtovanje učinkovitega in varnega zdravljenja. V članku smo opredelili več biotehnoških rešitev, ki pa žal v kratkem še ne bodo na voljo. Preden bodo ti načini zdravljenja uspešno vključeni v zdravljenje debelosti, jih je potrebno še optimizirati in obsežno preizkusiti v vseh fazah kliničnih raziskav.

LITERATURA

1. Misra M. Obesity pharmacotherapy: current perspectives and future directions. *Curr Cardiol Rev.* 2013; 9 (1): 33–54.
2. Yanovski SZ, Yanovski JA. Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. *JAMA.* 2014; 311 (1): 74–86.
3. Cooper GM. *The cell: a molecular approach.* 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc; 2000.
4. Farooqi SI. Genetic, molecular and physiological mechanisms involved in human obesity: Society for Endocrinology Medal Lecture 2012. *Clinical Endocrinol (Oxf).* 2015; 82 (1): 23–8.
5. Fogtelloo AJ, Pijl H, Frölich M, et al. Effects of recombinant human leptin treatment as an adjunct of moderate energy restriction on body weight, resting energy expenditure and energy intake in obese humans. *Diabetes Nutr Metab.* 2003; 16 (2): 109–14.
6. Lambert PD, Anderson KD, Sleeman MW, et al. Ciliary neurotrophic factor activates leptin-like pathways and reduces body fat, without cachexia or rebound weight gain, even in leptin-resistant obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; 98 (8): 4652–7.
7. Marshall S, Barbosa M; Xencor Inc. Ciliary neurotrophic factor variants. United States Patent US 2005064555. 2005 Mar 24.
8. Pipeline [internet]. Xencor; c2014 [citirano 2014 Apr 13]. Dosegljivo na: <http://www.xencor.com/pipeline/>
9. Russell M, Bredella M, Tsai P, et al. Relative growth hormone deficiency and cortisol excess are associated with increased cardiovascular risk markers in obese adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94 (8): 2864–71.
10. Misra M, Bredella MA, Tsai P, et al. Lower growth hormone and higher cortisol are associated with greater visceral adiposity, intramyocellular lipids, and insulin resistance in overweight girls. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 295 (2): E385–E92.
11. Mekala KC, Tritos NA. Effects of recombinant human growth hormone therapy in obesity in adults: a meta analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94 (1): 130–7.
12. Deal CL, Tony M, Höybye C, et al. Growth hormone research society workshop summary: consensus guidelines for recombinant human growth hormone therapy in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98 (6): E1072–E87.
13. Child CJ, Zimmermann AG, Scott RS, et al. Prevalence and incidence of diabetes mellitus in GH-treated children and adolescents: analysis from the GeNeSIS observational research program. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96 (6): E1025–E34.
14. Poidvin A, Touzé E, Ecosse E, et al. Growth hormone treatment for childhood short stature and risk of stroke in early adulthood. *Neurology.* 2014; 83 (9): 780–6.
15. Myalept [internet]. RxList; c2014 [citirano 2014 Apr 5]. Dosegljivo na: <http://www.rxlist.com/myalept-drug.htm>
16. Moon HS, Matarese G, Brennan AM, et al. Efficacy of metreleptin in obese patients with type 2 diabetes: cellular and molecular pathways underlying leptin tolerance. *Diabetes.* 2011; 60 (6): 1647–56.
17. Molerés A, Martínez JA, Martí A. Genetics of obesity. *Curr Obes Rep.* 2013; (2): 23–31.
18. Huvenne H, Dubern B, Clément K, et al. Rare genetic forms of obesity: clinical approach and current treatments in 2016. *Obes Facts.* 2016; 9 (3): 158–73.
19. Castanotto D, Rossi JJ. The promises and pitfalls of RNA-interference-based therapeutics. *Nature.* 2009; 457 (7228): 426–33.
20. Laber S, Cox RD. Commentary: FTO obesity variant circuitry and adipocyte browning in humans. *Front Genet.* 2015; 6: 318.
21. Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF 3rd. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.* 2013; 31 (7): 397–405.
22. Jolivet G, Braud S, DaSilva B, et al. Induction of body weight loss through RNAi-knockdown of *APOBEC1* gene expression in transgenic rabbits. *PLoS One.* 2014; 9 (9): e106655.
23. Fall T, Ingelsson E. Genome-wide association studies of obesity and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2014; 382 (1): 740–57.
24. Cooper DN, Chen JM, Ball EV, et al. Genes, mutations, and human inherited disease at the dawn of the age of personalized genomics. *Hum Mutat.* 2010; 31 (6): 631–55.
25. Greenhill C. Obesity. Copy number variants in *AMY1* connected with obesity via carbohydrate metabolism. *Nat Rev Endocrinol.* 2014; 10 (6): 312.

26. Kang KN, Lee YS. RNA aptamers: a review of recent trends and applications. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2013; 131: 153–69.
27. Kim EY, Kim JW, Kim WK, et al. Selection of aptamers for mature white adipocytes by cell SELEX using flow cytometry. *PLoS One.* 2014; 9 (5): e97747.
28. Liu J, Liu H, Sefah K, et al. Selection of aptamers specific for adipose tissue. *PLoS One.* 2012; 7 (5): e37789.
29. Mardinoglu A, Nielsen J. Systems medicine and metabolic modeling. *J Int Med.* 2012; 271 (2): 142–54.

Prispelo 14. 10. 2016

Petra Novak¹, Vanja Peršič²

Hiperkaliemija – vzroki, klinična slika in zdravljenje

Hyperkalemia – Etiology, Clinical Signs and Treatment

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: elektrolitske motnje, nespecifična simptomatika, maligne motnje srčnega ritma, soli kalcija, premik natrija v celico, izmenjevalne smole, diuretiki, patiromer

Hiperkaliemija pomeni porast koncentracije kalija v zunajcelični tekočini preko 5,5 mmol/l. Gre za eno najnevarnejših elektrolitskih motenj, ki lahko nastane zaradi sprememb razporeditve kalija v telesu, prevelikega vnosa in/ali motnje v izločanju kalija. Zahteva hitro terapevtsko ukrepanje po usmerjenih in posamezniku prilagojenih korakih ter stalen nadzor vrednosti serumskih koncentracij kalija v poteku zdravljenja. Pomembno je ugotoviti vzrok porasta koncentracije kalija in tako preprečiti ponoven razvoj hiperkaliemije.

ABSTRACT

KEY WORDS: electrolyte disorders, nonspecific symptoms, malignant disorders of heart rhythm, calcium salts, sodium shift, exchange resins, diuretics, patiromer

Hyperkalemia is defined as a serum potassium level higher than 5.5 mmol/l. It is amongst the most dangerous electrolyte disorders in the human body, usually associated with one of the following mechanisms: changes in the distribution of potassium between intracellular and extracellular fluid, excessive intake of potassium and/or ineffective elimination of potassium. An immediate and individualized therapeutic approach is required, with the effect of treatment constantly monitored. The cause of hyperkalemia must be determined to prevent future episodes.

¹ Petra Novak, dr. med., Oddelek za perioperativno medicino, Splošna bolnišnica Murska Sobota, Ulica dr. Vrbnjaka 6, 9000 Murska Sobota; petran1023@gmail.com

² Vanja Peršič, dr. med., Klinični oddelek za nefrologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

UVOD

Hiperkaliemija je elektrolitska motnja, pri kateri je vrednost kalija v zunajcelični tekočini nad 5,5 mmol/l. Serumske vrednosti so približno za 0,4–0,5 mmol/l višje od plazemskih (1). Pri znatno povišanih vrednostih ali hitrem porastu kalija je hiperkaliemija lahko življenje ogrožajoče stanje (2). Njene natančne incidence ne poznamo, glede na razpoložljive podatke jo najdemo pri 1,1–10 % bolnišnično zdravljenih (3).

POMEN IN URAVNAVANJE KALIJA V ORGANIZMU

Kalij je eden glavnih ionov v človeškem telesu in ima pomembno vlogo v mnogih fizioloških procesih. Velika večina (98 % oz. 2.400–3.900 mmol) kalija se nahaja v znotrajceličnem prostoru, kjer njegova koncentracija znaša 100–150 mmol/l. Koncentracija kalija v zunajceličnem prostoru je 3,8–5,5 mmol/l, pogosto se spreminja in je odvisna od dnevnega vnosa kalija s hrano. Ustrezno koncentracijo kalija v celicah vzdržuje predvsem aktivni transport s pomočjo encima Na^+/K^+ -ATPaze, ki se nahaja na membrani celic in črpa tri natrijeve ione iz celice ter dva kalijeve ione v celico. Takšno uravnavanje ionov je pomembno za ohranjanje mirovnega membranskega potenciala, celičnega transporta, celične prostornine in koncentracije kalcija.

Razporeditev in količino kalija uravnava vajo poleg mehanizmov, ki povzročijo premike kalija med zunaj- in znotrajceličnim prostorom, tudi mehanizmi, ki kalij zadržujejo ali izločajo iz telesa. Pri tem imata osrednjo vlogo ledvici (2, 4). Odrasel človek zaužije okoli 100 mmol kalija dnevno, od tega ledvici izločita približno 80–90 % (5). Izločanje preko ledvic običajno ohranja ravnovesje kalija, dokler je stopnja glomerulne filtracije (angl. *glomerular filtration rate*, GFR) nad 15 ml/min/1,73 m² (1). Kalij se filtrira v ledvičnem glomerulu, nato pa se v velikem deležu reabsorbira v proksimalnih tubulih (60–70 %) in Henlejevi zanki

(15–20 %) (6). Pri tem je delno vezan na transport natrija preko natrijevih prenašalcev in črpalk. Izločanje kalija poteka v distalnih tubulih, v največji meri pa v ledvičnih zbiralcih (5). V ledvičnih zbiralcih je izločanje kalija odvisno od mineralokortikoidne aktivnosti (aldosteron), dotoka natrija in pretoka seča (7, 8). K odstranjevanju kalija iz telesa poleg ledvic prispeva tudi debelo črevo, ki lahko izloči preostali presežek kalija (10–20 %), ob močno okrnjenem ledvičnem delovanju pa zmanjšanega ledvičnega izločanja kalija ne more nadomestiti (9).

VZROKI HIPERKALIEMIJE

Hiperkaliemijo lahko povzročijo številni dejavniki, ki jih razdelimo v dve skupini (tabela 1, tabela 2) (1):

- neustrezna razporeditev v telesnih tekočinah (premik kalija iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor) in
- povečana količina kalija v telesu zaradi prevelikega vnosa kalija v telo ali okvarjenih mehanizmov izločanja kalija iz telesa.

Kalij vnesemo v telo s hrano. Največ kalija vsebujejo sladki krompir, avokado, fižol, paradiznik, mlečni izdelki, nekatere vrste sadja (npr. banane, pomaranče, marelice, kivi, suho sadje) in oreški (1, 10). Hiperkaliemija zaradi prekomernega zaužitja hrane, bogate s kalijem, je redka in je običajno posledica sočasne okvare ledvičnega delovanja. Ob zelo okrnjenem ledvičnem delovanju (GFR < 15 ml/min) lahko že običajen vnos kalija privede do resne hiperkaliemije (1, 11, 12).

Hiperkaliemija je lahko tudi lažna (pseudohiperkaliemija) in ne odraža dejanskega stanja kalija v organizmu. Nanjo posumimo ob zvišani vrednosti kalija brez jasnega vzroka in odsotnosti simptomov. Gre za premik kalija iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor med odvzemom krvnega vzorca ali po njem. Lažna hiperkaliemija je lahko posledica mehanske hemolize (prehitra aspiracija pri odvzemu krvi, pretanka igla, stiskanje pesti ob nameščenem zažemu),

Tabela 1. Vzroki nastanka hiperkaliemije (2, 4, 9, 10, 13).

Primarni vzrok	Premik kalija iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor
Presnovna acidoza	neorganske kisline
Porast osmolalnosti krvi	hiperglikemija (sladkorna bolezen), infuzija hipertoničnega manitola, hipernatriemija
Množični razpad celic	rabdomioliza, razpad tumorja, opekline, ishemija okončin, hemoliza, transfuzija
Zdravila	zaviralci adrenergičnih receptorjev β , agonisti adrenergični receptorjev α , digoksin, sukcinilholin, ciklosporin

Tabela 2. Vzroki nastanka hiperkaliemije (2, 4, 9, 10, 13).

Primarni vzrok	Povečana količina kalija v telesu
Povečan vnos kalija	
Dieta	
Transfuzija eritrocitov	
Zdravila in pripravki	<ul style="list-style-type: none"> • kalijevi nadomestki • kalijev penicilin G
Zmanjšano odstranjevanje kalija iz telesa	
Ledvična okvara	<ul style="list-style-type: none"> • akutna ledvična odpoved • kronična ledvična bolezen
Renalna tubulna acidoza tipa 4	<ul style="list-style-type: none"> • pomanjkanje aldosterona (sladkorna bolezen, zapora spodnjih sečil, insuficienca nadledvičnic, genetske motnje) • odpornost na aldosteron (zdravila: antagonisti mineralokortikoidnih receptorjev (spironolakton, epleronon), zaviralci konvertaze angiotenzina, antagonisti receptorjev angiotenzina II, nesteroidni antirevmatiki, ciklosporin, takrolimus, trimetoprim, heparin itd.)
Neučinkovita hemodializa	
Zaprtje	

kemijskih vzrokov (razkuževanje vbodnega mesta z alkoholom) ali nekaterih stanj pri bolniku (npr. levkocitoza, trombocitoza itd.) (14, 15).

KLINIČNA SLIKA

Simptomi hiperkaliemije so ponavadi nespecifični in slabo izraženi. Prizadete so predvsem mišice in živčevje. Najpogosteje so bolniki utrujeni, imajo občutek razbijanja srca (palpitacije) in odrevenelosti okončin (parestezije, fascikulacije). Simptomi postanejo izraziti, kadar gre za hudo obliko hiperkaliemije. Pojavi se lahko ohlapna tetraplegija. Mišice glave in trupa ter dihalne

mišice so redko prizadete, običajno le pri zelo povišanih vrednostih kalija (nad 8 mmol/l). Povišana vrednost kalija lahko privede do nevarnih, tudi smrtnih motenj srčnega ritma (4, 16, 17).

DIAGNOSTIKA

Hiperkaliemija je lahko blaga, zmerna ali huda. Avtorji pri uvrstitvi hiperkaliemije v posamezne stopnje navajajo različne mejne vrednosti. Angleške smernice iz leta 2014 priporočajo naslednjo delitev (1, 18):

- blaga (5,5–5,9 mmol/l),
- zmerna (6,0–6,4 mmol/l) in
- huda hiperkaliemija ($\geq 6,5$ mmol/l).

Pri ugotavljanju vzroka hiperkaliemije moramo biti sistematični. Med jemanjem anamneze preverimo simptome, ki jih hiperkaliemija lahko povzroča, in zdravila, ki jih bolnik jemlje, predvsem morebitno uživanje nesteroidnih antirevmatikov, zaviralcev konvertaze angiotenzina, antagonistov receptorjev angiotenzina II, diuretikov, ki varčujejo s kalijem, kot so antagonisti mineralokortikoidnih receptorjev, ali zeliščnih pripravkov (10). Sledi naj telesni pregled, pri katerem smo posebej pozorni na hidriranost bolnika, delovanje srca in ledvic. Opravimo tudi okvorni nevrološki pregled (2). Laboratorijska diagnostika krvi in urina mora biti temeljita, še posebej kadar vzrok nastanka hiperkaliemije ni znan. Če je ledvično delovanje okrnjeno, opravimo morfološki pregled sečil. Pri bolnikih z vrednostmi kalija nad 6 mmol/l je obvezna preiskava EKG, kjer so sprva vidne nespecifične spremembe v fazi repolarizacije (odsotnost vala P, široki kompleksi QRS, visoki valovi T). Z višanjem serumske koncentracije kalija se povečuje tveganje za prekatne motnje ritma (prekatna tahikardija ali prekatna fibrilacija), ki lahko vodijo do asistolije (20–22).

Značilne spremembe v EKG glede na serumsko koncentracijo kalija so (20):

- koničasti valovi T, skrajšana doba QT in spust veznice ST (5,5–6,4 mmol/l),
- podaljšana doba PQ, izginotje vala P, širjenje komplesov QRS (6,5–8,0 mmol/l) in
- široki kompleksi QRS, nastanek srčnih blokov, migetanje prekatov, asistolija (nad 8,0 mmol/l).

Z višanjem serumske koncentracije kalija se sicer povečuje tveganje za pojav malignih motenj srčnega ritma, vendar je pomembno vedeti, da absolutne povezave med vrednostmi kalija in spremembami v EKG ni. Nanje vplivajo namreč še sočasne druge elektrolitske ali presnovne motnje, predvsem pa hitrost nastanka hiperkaliemije. Napredovanja benignih sprememb v EKG v maligne motnje ritma zato ni vedno moč predvideti (20, 21).

ZDRAVLJENJE HIPERKALIEMIJE

Hiperkaliemija je potencialno življenje ogrožajoče stanje. Pri načinu zdravljenja upoštevamo stopnjo in vzrok hiperkaliemije ter zdravljenje prilagodimo vsakemu bolniku posebej (20). Prvi korak je torej presoja resnosti stanja. Pri tem so pomembne koncentracije serumskega ali plazemskega kalija, hitrost njihovega porasta in spremembe v EKG. Pri bolnikih z življenje ogrožajočo hiperkaliemijo (serumska koncentracija kalija nad 6,5 mmol/l, spremembe v EKG, serumska koncentracija kalija 6,0–6,4 mmol/l) s simptomi hiperkaliemije ali stanja, pri katerih pričakujemo hiter in dalj časa trajajoč porast serumske koncentracije kalija, npr. anurija, poglobljanje acidoze, sočasna uporaba več zdravil, ki zadržujejo kalij v telesu) priporočamo neprekinjen nadzor z EKG, takojšnje zdravljenje hiperkaliemije in napatitev v bolnišnico (18, 19). Pri bolnikih z blažjo hiperkaliemijo običajno zadostuje, da opredelimo in odpravimo vzrok hiperkaliemije ter z zdravili sprožimo premik kalija v celice in iz telesa (22).

Zdravljenje hiperkaliemije poteka po določenih korakih. Prvi korak je zaščita srčne mišice pred aritmijami, ki ji sledi premik kalija iz zunajceličnega v znotrajcelični prostor in odstranjevanje presežka kalija iz telesa. Istočasno moramo nadzorovati vrednosti kalija in spremljati spremembe v EKG. Bistvenega pomena je tudi preprečevanje nastanka in ponovitve hiperkaliemije (23).

Urgentno zdravljenje – intravenske soli kalcija

Za urgentno zdravljenje uporabljamo eno izmed navedenih spojin:

- 10 ml 10-odstotni kalcijev klorid (vsebuje 6,8 mmol Ca²⁺) ali
- 10 ml 10-odstotni kalcijev glukonat (vsebuje 2,26 mmol Ca²⁺).

Kalcij pomembno vpliva na elektrofiziološke lastnosti miocitov, saj zmanjša depolarizacijo in s tem vzdražnost membrane

srčnomišičnih celic. S tem zmanjša verjetnost pojava malignih motenj srčnega ritma zaradi hiperkaliemije. Kalcij je tako pomemben izključno za zaščito srca, na vrednost samega kalija v krvi pa ne vpliva (24).

Kalcijeve soli apliciramo vsem bolnikom z življenje ogrožajočo hiperkaliemijo (25). Učinek kalcija se pokaže v treh minutah, kar opazimo v EKG (kompleks QRS se zoži, amplituda vala T se zniža), in traja približno 30–60 min. Če po petih do desetih minutah ni vidnega učinka, je potrebno odmerek ponoviti (18). Ponavadi zadošča 10–30 ml 10-odstotnega kalcijevega glukonata ali 10 ml 10-odstotnega kalcijevega klorida intravenozno (26).

Glavni neželeni učinek kalcijevih pripravkov je nekroza tkiva zaradi uhajanja kalcijeve raztopine v okolico. Pogosteje se pojavi pri uporabi kalcijevega klorida. Ker nekroza lahko prizadene tudi žilno steno, moramo pred aplikacijo zdravila zagotoviti ustrezen venski pristop. Kalcijev klorid vedno apliciramo v osrednjo veno, kalcijev glukonat pa lahko bolnik prejme tudi preko periferne vene. Drugi neželeni učinki so periferna vazodilatacija, znižanje krvnega tlaka ali srčne frekvence ter sinkope ali aritmije (7). Pomembno je opozoriti na dejstvo, da moramo biti pri bolnikih, ki prejemajo digoksin, posebej previdni, saj po nekaterih podatkih zvišanje koncentracije serumskega kalcija ojača učinke tega zdravila (27).

Premik kalija v celice

Naslednji hiter in učinkovit ukrep je aplikacija spojin, ki povzročijo premik kalija iz zunajceličnega v znotrajcelični prostor. To lahko dosežemo na tri različne načine: z uporabo inzulina, salbutamola ali natrijevega bikarbonata (28).

Premik kalija v celice z infuzijo inzulina

Priporočajo intravensko dajanje šestih do desetih enot inzulina. Sočasno bolnik prejme tudi 25 g glukoze oz. 50 ml 50-odstotne glukoze, da preprečimo hipoglikemijo (18).

Inzulin učinkuje predvsem na celice jeter in srčne mišice (29). Vrednost kalija se prične zniževati približno 15 min po aplikaciji, največji učinek pa dosežemo v 30–60 min (29, 30). Intenzivno zniževanje koncentracije kalija traja približno dve uri, učinek inzulina pa traja od štiri do šest ur. Kasneje kalij spet uhaja iz celic nazaj v zunajcelični prostor, kar lahko ponovno vodi v hiperkaliemijo (31). Ciljne vrednosti glukoze so med 10–15 mmol/l (2). Pri bolnikih s hiperglikemijo lahko dajemo inzulin brez glukoze (29). Učinek inzulina z glukozo okrepimo, če bolnik sočasno prejme salbutamol (32). Najresnejši in najpogostejši neželeni učinek zdravljenja z inzulinom je hipoglikemija, ki se pojavi pri 11–75 % bolnikov kljub dajanju standardnih odmerkov, zato nekateri po dajanju inzulina priporočajo trajno infuzijo 5-odstotne glukoze (33). Prednost opisane načina zdravljenja je zelo hiter učinek, slabost pa njegova nepredvidljivost (2).

Premik kalija v celice s salbutamolom

Salbutamol je agonist adrenergičnih receptorjev β_2 , ki preko učinkovanja na Na^+/K^+ -ATPazo podobno kot inzulin povzroči premik kalija v notranjost celic. Apliciramo ga lahko intravensko ali preko inhalatorja, pri čemer sta oba načina enako učinkovita (34). Odmerki so velikosti 10 mg, kar pri uporabi inhalatorja, pri katerem en vpih vsebuje 0,1 mg salbutamola, pomeni približno 100 vpihov. Zniževanje kalija opazimo po 30 min, učinek pa izzveni v približno dveh urah (18, 35). Pri bolnikih, ki redno prejemajo zaviralce adrenergičnih receptorjev β , salbutamol nima učinka (36). Prav tako so ugotovili neučinkovitost pri 20–33 % bolnikov, ki so zdravilo prejeli v inhalacijah (37, 38). Neželeni učinki salbutamola se večinoma pojavijo po intravenskem dajanju. Bolniki najpogosteje navajajo tremor, palpitacije, pospešen srčni utrip ali glavobol. Možen je tudi pojav blage hipoglikemije (38, 39). Zaradi nepredvidljivih učinkov ga pri nas redko uporabljamo.

Premik kalija v celice z natrijevim bikarbonatom

Uporaba natrijevega bikarbonata je smiselna predvsem ob hudi presnovni acidozi, ko znaša koncentracija bikarbonata manj kot 10 mmol/l, in v primerih, ko je potrebno kalij dolgoročno zniževati (40). Uporabimo 50–200 mmol 8,4-odstotnega natrijevega bikarbonata (41). Ker je natrijev bikarbonat manj učinkovit od prej omenjenih zdravil, ga trenutne angleške smernice za zdravljenje življenja ogrožajoče hiperkaliemije ne priporočajo. Če ga uporabimo, moramo upoštevati, da lahko privede do velike obremenitve z natrijem in posledično s tekočino, kar lahko pomeni dvig krvnega tlaka ali celo poslabšanje srčnega popuščanja (18).

Odstranjevanje kalija iz telesa

Odstranjevanje kalija s kationskimi izmenjevalnimi smolami (natrijev polistiren sulfonat)

Izmenjevalne smole so polimeri z negativno nabitimi strukturnimi enotami. V črevesu sproščajo natrijeve ali kalcijeve ione in vežejo kalijeve ione. S tem zmanjšajo absorpcijo kalija iz prebavil. Kationskih izmenjevalnih smol ne uporabljamo pri urgentnem zdravljenju hiperkaliemije. Namenjene so predvsem zdravljenju hiperkaliemije blage in zmerne stopnje (2). Smole lahko dajemo peroralno ali intravensko. Uporabljamo odmerke 60 g natrijevega polistiren sulfonata. Pri oralni aplikaciji dodamo še 20-odstotni sorbitol, ki preprečuje zaprtje. Odstranjevanje kalija z izmenjevalnimi smolami je počasnejše, svoj polni učinek dosežejo po štirih do osmih urah (42). Najresnejši neželeni učinek je nekroza tankega črevesja, do katere lahko privede tako oralno kakor intrarektalno dajanje smole (2).

Odstranjevanje kalija z diuretiki

Z diuretiki odstranjujemo kalij preko ledvic, če ledvična funkcija ni pomembno okrnjena. Gre za počasen, a hkrati učinkovit način odstranjevanja kalija (18). Najpogo-

steje uporabljamo diuretike Henleyeve zanke (furosemid) in redko tiazidne diuretike, ki delujejo v predelu distalnih tubulov (43). Na tem mestu velja opozoriti, da moramo biti previdni pri sočasnem predpisovanju diuretikov, ki varčujejo s kalijem, in zdravil z učinkom na sistem renin-angiotenzin-aldosteron (zaviralci konvertaze angiotenzina, antagonist receptorjev angiotenzina II). V tem primeru že sama kombinacija zdravil poveča tveganje za nastanek hiperkaliemije (44).

Odstranjevanje kalija s hemodializo

Hemodializa je najhitrejši način odstranjevanja kalija iz telesa in zdravljenje izbora pri hudi hiperkaliemiji pri dializnih bolnikih in bolnikih z akutno ledvično odpovedjo, pri katerih moramo serumsko koncentracijo kalija znižati takoj (npr. bolniki s hiperkaliemijo v srčnem zastoju), ali pa pri bolnikih, ki ne morejo izločiti kalija iz telesa le z uporabo zdravil (npr. anurični bolniki) (18, 45). Pri kronični hiperkaliemiji je poleg hemodialize učinkovita tudi peritonealna dializa (46).

Nadzor in spremljanje

Bolnika zdravimo v intenzivni enoti, kjer je omogočen nepretrgan nadzor z EKG in nadzor življenjskih funkcij, dokler se vrednosti kalija ne znižajo do območja, ki ne predstavlja več življenjske ogroženosti (pod 6,0 mmol/l). Koncentracijo kalija kontroliramo 1, 2, 4, 6 in 24 ur po začetku zdravljenja hiperkaliemije. Na ta način ocenimo uspešnost zdravljenja in prepoznamo morebiten ponoven porast kalija, ko učinek zdravil izzveni.

Zaradi možnosti razvoja hipoglikemije spremljamo tudi vrednosti glukoze v krvi. Prvo meritev opravimo takoj ob začetku zdravljenja z inzulinom, nato po 15 in 30 min, kasneje pa še šest ur po enkrat na uro, dokler pričakujemo delovanje inzulina. V primeru hipoglikemije bolniku damo bolus 50–100 ml 50-odstotne glukoze, nato

pa nadaljujemo z infuzijo 5-odstotne glu-koze za preprečevanje morebitnih ponovi-tev hipoglikemije.

Med samim zdravljenjem in še po njem spremljamo krvni tlak. Posebej previdni smo pri predpisovanju zdravil, ki vplivajo na koncentracijo kalija v krvi. Bolniku priporočimo omejitev uživanja hrane, ki vsebuje veliko kalija. Posebej skrben nadzor potrebujejo bolniki z okvarjeno ledvično funkcijo, s kroničnim srčnim popuščan-jem in tisti, ki jemljejo zdravila, ki vpliva-jo na vrednosti kalija v krvi (18).

Novejša zdravila za zdravljenje hiperkaliemije

Patiromer (Veltassa®) je eno od novejših zdra-vil za zdravljenje hiperkaliemije, ki je bilo v ZDA uradno odobreno oktobra 2015, v Evropi pa julija 2017 (47, 48). Pri nas zaenkrat še ni na voljo. Patiromer je prašek, ki z dodatkom vode tvori oralno suspenzijo in deluje kot vezalec prostih kalijevih ionov v prebavnem traktu. Učinkovina je kationski izmenjevalni polimer, ki vsebuje kompleks kalcija in sorbitola. V telesu se ne presnavlja, temveč se v nespremenjeni obliki izloči z blatom (46). Začetni dnevni odmerek je 8,4 g. Učinki patiromera se pokažejo sedem ur po zaužitju, vrednosti kalija pa se nato po-stopoma znižujejo še 48 ur in ostanejo sta-bilne še naslednjih 24 ur. Pogosti neželeni učinki zdravila so zaprtje, driska, slabost, me-teorizem in bolečine v želodcu. Zaradi počas-nega učinka patiromer ni primeren za ur-gentno zdravljenje hiperkaliemije (49).

Drugo novejše zdravilo za zdravljenje hiperkaliemije je ZS-9 oz. natrij cirkonijev

ciklosilicilat (Lokelma™), ki je bil v ZDA uradno odobren maja 2018, v Evropi pa marca 2018 (50, 51). Natrij cirkonijev ci-klosilicilat je prašek, ki z dodatkom vode prav tako tvori oralno suspenzijo. Deluje kot netopni, selektivni kationski vodikov- ali natrij-kalijev izmenjevalec. Medtem ko ka-tionske izmenjevalne smole in patiromer učinkovito vežejo kalij v debelem črevesju, deluje natrij cirkonijev ciklosilicilat celotni prebavni cevi. Učinek zdravila je hiter, de-lovati začne v eni uri, zato je primerno tudi za zdravljenje akutne hiperkaliemije, čeprav veliko podatkov o zdravljenju hude hiper-kaliemije ali hiperkaliemije pri dializnih bolnikih še ni na voljo. Priporočen odme-rek za hitro znižanje serumske koncen-tracije kalija je trikrat dnevno po 10 g, za vzdrževanje normokaliemije pa ponavadi zadošča dnevni odmerek 5–10 g. Najpogo-stejša neželena učinka zdravila sta hipo-kaliemija in zadrževanje tekočine (edemi, hipervolemija itd.). V Sloveniji zdravilo zaenkrat ni na voljo (52).

ZAKLJUČEK

Hiperkaliemija je pogosta in pomembna elektrolitska motnja, ki lahko predstavlja življenje ogrožajoče stanje. Vzroki zanjo so številni, simptomi pa nespecifični in pogo-sto slabo izraženi, zaradi česar je potrebna posebna pazljivost in sistematičnost pri diagnostiki. Zdravljenje hiperkaliemije je stopenjsko. Enako pomembno kot začetno zdravljenje je preprečevanje morebitnega ponovnega porasta koncentracije kalija.

LITERATURA

1. Kovač J, Kandus A. Motnje v presnovi kalija. In: Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: Littera picta; 2011. p. 76–8.
2. Lehnhardt A, Kemper MJ. Pathogenesis, diagnosis and management of hyperkalemia. *Pediatr Nephrol*. 2011; 26 (3): 377–84.
3. Agarwal R, Afzalpurkar R, Fordtran JS. Pathophysiology of potassium absorption and secretion by the human intestine. *Gastroenterology*. 1994; 107 (2): 548–71.
4. Montague BT, Ouellette JR, Buller GK. Retrospective review of the frequency of ECG changes in hyperkalemia. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3 (2): 324–30.
5. Bastl C, Kliger AS, Blinder HJ, et al. Characteristics of potassium secretion in the mammalian colon. *Am J Physiol*. 1978; 234 (1): 48–53.
6. Smith SM. Thiazide diuretics. *N Engl J Med*. 2010; 362 (7): 659–60.
7. Biner HL, Arpin-Bott MP, Loffing J, et al. Human cortical distal nephron: distribution of electrolyte and water transport pathways. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13 (4): 836–47.
8. Palmer LG, Frindt G. Aldosterone and potassium secretion by the cortical collecting duct. *Kidney Int*. 2000; 57 (4): 1324–8.
9. Bia MJ, DeFronzo RA. Extrarenal potassium homeostasis. *Am J Physiol*. 1981; 240 (4): 257–68.
10. Palmer BF, Clegg DJ. Physiology and pathophysiology of potassium homeostasis. *Adv Physiol Educ*. 2016; 40 (4): 480–90.
11. Sica DA, Gehr TW, Yancy C. Hyperkalemia, congestive heart failure, and aldosterone receptor antagonism. *Congest Heart Fail*. 2003; 9 (4): 224–9.
12. Rabelink TJ, Koornans HA, Hené RJ, et al. Early and late adjustment to potassium loading in humans. *Kidney Int*. 1990; 38 (5): 942–7.
13. Perazella MA. Drug-induced hyperkalemia: old culprits and new offenders. *Am J Med*. 2000; 109 (4): 307–14.
14. Owens H, Siparsky G, Bajaj L, et al. Correction of factitious hyperkalemia in hemolyzed specimens. *Am J Emerg Med*. 2005; 23 (7): 872–5.
15. Asirvatham JR, Moses V, Bjornson L. Errors in potassium management: a laboratory perspective for the clinician. *N Am J Med Sci*. 2013; 5 (4): 255–9.
16. Jurkat-Rott K, Holzherr B, Fauler M, et al. Sodium channelopathies of skeletal muscle result from gain or loss of function. *Pflugers Arch*. 2010; 460 (2): 239–48.
17. Freeman SJ, Fale AD. Muscular paralysis and ventilatory failure caused by hyperkalemia. *Br J Anaesth*. 1993; 70 (2): 226–7.
18. Alfonso A, Soar J, MacTier R, et al. Clinical practice guidelines. Treatment of acute hyperkalemia in adults. Bristol: The Renal Association; 2014.
19. Weisberg LS. Management of severe hyperkalemia. *Crit Care Med*. 2008; 36 (12): 3246–51.
20. Mattu A, Brady WJ, Robinson DA. Electrocardiographic manifestations of hyperkalemia. *Am J Emerg Med*. 2000; 18 (6): 721–9.
21. Fisch C. Relation of electrolyte disturbances to cardiac arrhythmias. *Circul*. 1973; 47 (2): 408–19.
22. Montague BT, Ouellette JR, Buller GK. Retrospective review of the frequency of ECG changes in hyperkalemia. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3 (2): 324–30.
23. Alfonso AV, Isles C, Geddes C, et al. Potassium disorders – clinical spectrum and emergency management. *Resuscitation*. 2006; 70 (1): 10–25.
24. Hoffman BF, Suckling EE. Effect of several cations on transmembrane potentials of cardiac muscle. *Am J Physiol*. 1956; 186 (2): 317–24.
25. Soar J, Perkins GD, Abbas G, et al. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2010 Section 8. Cardiac arrest in special circumstances: electrolyte abnormalities, poisoning, drowning, accidental hypothermia, hyperthermia, asthma, anaphylaxis, cardiac surgery, trauma, pregnancy, electrocution. *Resuscitation*. 2010; 81 (10): 1400–33.
26. Davey M, Caldicott D. Calcium salts in management of hyperkalaemia. *Emerg Med J*. 2002; 19 (1): 92–3.
27. Kne T, Brokaw M, Wax P. Fatality from calcium chloride in a chronic digoxin toxic patient. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1997; 5: 505.
28. Allon M, Shanklin N. Effect of bicarbonate administration on plasma potassium in dialysis patients: interactions with insulin and albuterol. *Am J Kidney Dis*. 1996; 28 (4): 508–13.

29. Allon M, Copkney C. Albuterol and insulin for treatment of hyperkalaemia in haemodialysis patients. *Kidney Int.* 1990; 38 (5): 869–72.
30. Kim HJ. Combined effect of bicarbonate and insulin with glucose in acute therapy of hyperkalaemia in endstage renal disease patients. *Nephron.* 1996; 72 (3): 476–82.
31. Elliott MJ, Ronskley PE, Clase CM, et al. Management of patients with acute hyperkalaemia. *CMAJ.* 2010; 182 (15): 1631–5.
32. Lens XM, Montoliu J, Cases A, et al. Treatment of hyperkalaemia in renal failure: salbutamol v. insulin. *Nephrol Dial Transplant.* 1989; 4 (3): 228–32.
33. Ahee PP, Crowe AV. The management of hyperkalaemia in the emergency department. *J Accid Emerg Med.* 2000; 17 (3): 188–91.
34. McClure RJ, Prasad VK, Brocklebank JT. Treatment of hyperkalaemia using intravenous and nebulised salbutamol. *Arch Dis Child.* 1994; 70 (2): 126–8.
35. Allon M, Dunlay R, Copkney C. Nebulised albuterol for acute hyperkalaemia in patients on haemodialysis. *Ann Intern Med.* 1989; 110 (6): 426–9.
36. Liou HH, Chiang SS, Wu SC, et al. Hypokalemic effects of intravenous infusion or nebulization of salbutamol in patients with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis.* 1994; 23 (2): 266–71.
37. Wong SL, Maltz HC. Albuterol for the treatment of hyperkalemia. *Ann Pharmacother.* 1999; 33 (1): 103–6.
38. Kovač J. Motnje v presnovi kalija. In: Lindič J, Kovač D, Kveder R, eds. *Bolezni ledvic.* Ljubljana: Slovensko zdravniško društvo; 2014. p. 141–51.
39. Mandelberg A, Krupnik Z, Houry S, et al. Salbutamol metered-dose inhaler with spacer for hyperkalaemia: how fast? How safe? *Chest.* 1999; 115 (3): 617–22.
40. Weiner DI, Wingo CS. Hyperkalemia: A potential silent killer. *J Am Soc Nephrol.* 1998; 9 (8): 1535–43.
41. Hyperkalaemia [internet]. Perth: Life in the Fast Lane; c2007–2017 [citirano 2017 Jun 11]. Dosegljivo na: <https://lifeinthefastlane.com/hyperkalemia/>
42. Abraham SC, Bhagavan BS, Lee LA, et al. Upper gastrointestinal tract injury in patients receiving kayexalate (sodium polystyrene sulfonate) in sorbitol: clinical, endoscopic, and histopathologic findings. *Am J Surg Pathol.* 2001; 25 (5): 637–44.
43. Bragg-Gresham JL, Fissell RB, Mason NA, et al. Diuretic use, residual renal function, and mortality among hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Pattern Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis.* 2007; 49 (3): 426–31.
44. Lin JL, Lim PS, Leu ML, et al. Outcomes of severe hyperkalaemia in cardiopulmonary resuscitation with concomitant haemodialysis. *Intensive Care Med.* 1994; 20 (4): 287–90.
45. Chapagain A, Ashman N. Hyperkalemia in the age of aldosterone antagonism. *Q J Med.* 2012; 105 (11): 1049–57.
46. Bakris GL, Pitt B, Weir MR, et al. Effect of patiromer on serum potassium level in patients with hyperkalemia and diabetic kidney disease: The AMETHYST-DN randomized clinical trial. *JAMA.* 2015; 314 (2): 151–61.
47. FDA Approved Drug Products [internet]. New Hampshire: Food and Drug Administration; c1996–2018 [citirano 2017 Sept 22]. Dosegljivo na: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&applno=205739>
48. European Medicines Agency: Valtessa [internet]. London: European Medicines Agency; c1995–2018 [citirano 2017 Sep 30]. Dosegljivo na: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/004180/human_med_002141.jsp
49. Relypsa [internet]. Redwood: Valtessa; c2007–2017 [citirano 2017 Aug 11]. Dosegljivo na: <https://www.valtessa.com/patient/>
50. FDA: FDA Approved Drug Products [internet]. New Hampshire: Food and Drug Administration; c1996–2018 [citirano 2017 Oct 3]. Dosegljivo na: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&applno=207078>
51. European Medicines Agency: Lokelma [internet]. London: European Medicines Agency; c1995–2018 [citirano 2017 Oct 3]. Dosegljivo na: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/004029/human_med_002084.jsp&mid=WCOb01ac058001d124
52. European Medicines Agency: Summary of Product Characteristics [internet]. London: European Medicines Agency; c1995–2018 [citirano 2017 Okt 5]. Dosegljivo na: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/004029/WC500246774.pdf

Nik Žlak¹, Luka Vitez², Marija Hribernik³, Matej Drobnič⁴

Anatomija in klinični pomen anterolateralne vezi kolenskega sklepa

Anatomy and Clinical Significance of Anterolateral Knee Ligament

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: koleno, anterolateralna vez, sprednja križna vez, rotacijska stabilnost, rekonstrukcija, Segondov zlom

Anterolateralna vez je v sklepni ovojnici ležeča struktura na lateralni strani kolena. Izvira na prominenci lateralnega kondila stegenice, nekoliko anteriorno od lateralne kolateralne vezi in poteka poševno anterolateralno na proksimalni del golenice, med Gerdijev tuberkel ter konico glavice mečnice. Ima pomembno vlogo pri anterolateralni in notranji rotacijski stabilnosti kolena. Poškodbo anterolateralne vezi povezujejo s poškodbo sprednje križne vezi. V določenih okoliščinah se anterolateralna vez iztrga z narastišča na golenici, kar je poznano kot Segondov zlom. Smernic, ki bi nedvoumno priporočile rekonstrukcijo anterolateralne vezi hkrati z rekonstrukcijo sprednje križne vezi, trenutno še ni. Kljub temu se rekonstrukcija anterolateralne vezi vedno pogosteje izvaja pri primarnih rekonstrukcijah sprednje križne vezi s hudo rotacijsko nestabilnostjo in pri revizijskih operacijah po ponovnih poškodbah. Anterolateralna vez je bila prvič opisana že v 19. stoletju, vendar je pritegnila pozornost strokovne javnosti leta 2013, ko so jo laični mediji na podlagi znanstvene publikacije Claesa in sodelavcev opredelili kot novoodkrito anatomsko strukturo.

ABSTRACT

KEY WORDS: knee, anterolateral ligament, anterior cruciate ligament, rotational stability, reconstruction, Segond fracture

The anterolateral ligament is an intracapsular structure lying on the lateral side of the knee. It originates from the prominence of the lateral femoral condyle, slightly anterior to the lateral collateral ligament, and runs an oblique course to the anterolateral aspect of the proximal tibia between Gerdy's tubercle and the tip of the fibular head. It plays an important role in the anterolateral and internal rotational stability of the knee. Anterolateral ligament injury is associated with anterior cruciate ligament injury. In certain situations, the anterolateral ligament is torn from the tibial insertion, which is known

¹ Nik Žlak, dr. med., Oddelek za ortopedsko kirurgijo, Splošna bolnišnica Novo mesto, Šmihelska cesta 1, 8000 Novo mesto; nik.zlak@gmail.com

² Luka Vitez, dr. med., Klinični oddelek za gastroenterologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva ulica 2, 1000 Ljubljana

³ Prof. dr. Marija Hribernik, dr. med., Inštitut za anatomijo, Medicinska fakulteta, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana

⁴ Prof. dr. Matej Drobnič, dr. med., Oddelek za artroskopijo in poškodbe pri športu, Ortopedska klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 9, 1000 Ljubljana; Katedra za ortopedijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 9, 1000 Ljubljana

as the Segond fracture. There are currently still no clear guidelines regarding the necessity of simultaneous reconstruction of anterolateral ligament in addition to the reconstruction of the anterior cruciate ligament. Reconstruction of anterolateral ligament is performed more often during primary reconstructions of the anterior cruciate ligament with severe rotational instability and revision operations after repeated knee injury. Although anterolateral ligament was first described in the 19th century, it gained significant attention in 2013 when following the scientific publications by Claes et al. the popular media defined it as a newly discovered anatomical structure.

UVOD

Kljub številnim raziskavam zgradbe in funkcije človeškega kolena natančna povezava med strukturami in njihovim delovanjem še vedno ni popolnoma pojasnjena. Kolenski sklep stabilizira kompleksen sistem statičnih in dinamičnih stabilizatorjev. Statični stabilizatorji so kolenske vezi, dinamični pa mišice, ki potekajo preko sklepa in ga premikajo.

OSNOVNA ANATOMIJA IN KINEMATIKA KOLENSKEGA SKLEPA

Koleno je sestavljen sklep, v katerem se stikajo stegnenica, golenica in pogačica. Med stegnenico in golenico sta umeščena meniskusa, ki uravnavata neskladnost sosednjih sklepnih ploskev. K stabilnosti sklepa prispevajo vezi in mišice (1).

Mišice, ki potekajo preko kolenskega sklepa, so dinamični stabilizatorji. Vezi, meniskusa, sklepna ovojnica ter sklepne površine pa statični stabilizatorji kolena (2).

Kolenski sklep je čepasto tečajast sklep (lat. *trochogynghlimus*). Gibljiv je v treh oseh (rotacija) in treh ravninah (translacija). Možna je ekstenzija do polnega iztega (0°) ali celo hiperekstenzija (10–15°) ter fleksija, ki znaša 135–150°. Za polno funkcijo sta nujna zasuka v anteroposteriorni osi (valgus in varus) in v aksialni osi golenice (zunanja in notranja rotacija golenice). Translacija v treh ravninah (sagitalni, koronarni in horizontalni), ki jo omogoča ohlapnost vezi, je pri različnih kotih upogiba različna.

Vezivni aparat varuje sklep pred prevelikimi premiki, a hkrati omogoča njegovo pravilno delovanje (1, 2). Kombinirana poškodba sprednje križne vezi (SKV) in anterolateralnih struktur vodi do večje sprednje translacije golenice ter nestabilnosti ob notranji rotaciji golenice v primerjavi s spremembami pri izolirani poškodbi SKV (3).

ZGODOVINSKI VIDIK ANTEROLATERALNE VEZI

Anterolateralna vez (ALV) je v sklepni ovojnici ležeča struktura na lateralni strani kolena (4). Najverjetneje prvi zapisi o ALV segajo že v leto 1752, ko je Weibrecht opisal fibrozni snop, ki je potekal po lateralnem delu sklepne ovojnice in se priraščal na lateralni meniskus (5). Podrobneje ga je v svojih delih opredelil francoski kirurg Paul Segond leta 1879, ki ga je v opisu avulzijskega zloma anterolateralnega dela golenice (Segondov zlom) opisal kot biserni, obstojni, fibrozni pas, ki se napne ob forsirani notranji rotaciji, vendar strukture ni nikoli natančno poimenoval (4, 5). Leta 1914 je Vallois, francoski profesor anatomije, naredil raziskavo kolen na primatih in opisal lateralno epikondilomeniskalno vez (LEMV), fibrozni trak, ki izvira z vrha epikondila stegenice nad lateralno kolateralno vezjo in se konča na zgornjem robu lateralnega meniskusa. Njegovo delo je dopolnil direktor anatomskega inštituta v Strasbourgu Jost, ki je s seciranjem kolen potrdil prisotnost LEMV pri 82 % odraslih in opazil dobro razvitost vezi pri novoro-

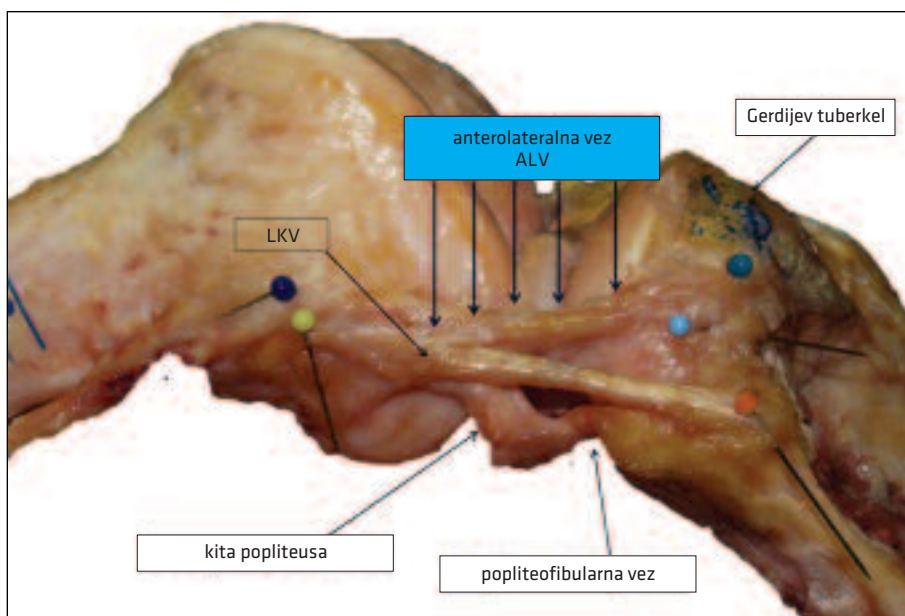
jenčkih (6). Sledila so različna poimenovanja strukture na lateralnem delu kolenske sklepne ovojnice: anteriorni pas lateralne vezi, srednja tretjinska lateralna kapsularna vez, anteriorni poševni pas (4). Kljub temu da je bila ALV prvič opisana že v 19. stoletju, je postala slavna leta 2013, ko so jo laični mediji na osnovi znanstvene objave Claesa in sodelavcev opredelili kot novoodkrita anatomsko strukturo (7). Nekateri še vedno dvomijo v obstoj ALV in menijo, da se struktura prikaže ob agresivnem seciranju ter je posledica zadebelitve sklepne ovojnice (6). Strokovna javnost še vedno ni povsem enotna glede natančne strukture in funkcije omenjene vezi. ALV ostaja predmet raziskav na področju ortopedije in kirurške oskrbe poškodb kolenskega sklepa.

ANATOMIJA IN FUNKCIJA ANTEROLATERALNE VEZI

ALV je jasno zamejena vez na lateralni strani kolena, ki povezuje lateralni kondil stegenice, lateralni meniskus in anterola-

teralni plato golenice (slika 1) (4). Izvira s prominence lateralnega epikondila stegenice, anteriorno od izvora lateralne kolateralne vezi (LKV) ter proksimalno in posteriorno od pripenjališča kite poplitealne mišice. Na izvoru je povezana z LKV in lateralnim stegenkim medmišičnim pretinom. Poteka poševno proti anterolateralni strani golenice in se z močnim snopom prirašča na srednjo tretjino lateralnega meniskusa ter pri tem objema spodnjo lateralno genikulatno arterijo in veno. Distalno se ALV prirašča na proksimalni del golenice, na sredino razdalje med Gerdijevim tuberklom (prirastišče iliotibialnega traktusa) in konico glavičice mečnice ter je popolnoma ločena od prirastišča iliotibialnega traktusa (5, 8).

ALV ima pomembno vlogo pri notranji rotaciji golenice in anterolateralni rotatorni stabilnosti kolena, ki preverjamo s Pivot shift testom. Preprečuje tudi sprednjo subluksacijo golenice. Njena stabilizacijska vloga je največja pri notranji rotaciji in



Slika 1. Preparacija anterolateralne vezi in sosednjih struktur na lateralni strani kolenskega sklepa (9). ALV – anterolateralna vez, LKV – lateralna kolateralna vez.

fleksiji kolena, večji od 35°, medtem ko je pri sprednji subluksaciji, neodvisno od fleksije kolena, najmanj napeta. Ravno nasprotno je SKV pomembna pri stabilizaciji kolena ob sprednji subluksaciji, ne glede na kot fleksije, ter pri notranji rotaciji in fleksiji, manjši od 35° (10). Dodds in sodelavci so ugotovili, da je ALV izometrična med 0° in 60° fleksije, medtem ko se skrajša pri fleksiji med 60° in 90° in zunanji rotaciji kolena (11). Pri pokrčenem kolenu med 30° in 90° in hkratni forsirani notranji rotaciji se ALV napne ter pri tem stabilizira tudi lateralni meniskus, na katerega je priraščena (12). Raziskave povezujejo ALV z avulzijsko poškodbo anterolateralnega predela platoja golenice pri Segondovem zlomu, kar kaže na njen pomen pri stabilizaciji kolena. Z imunohistokemično analizo so v ALV zaznali tudi preplet perifernih živcev, kar bi lahko kazalo na proprioceptivno vlogo v kolenu (8).

POŠKODBA ANTEROLATERALNE VEZI IN POSLEDICE

Najpogosteje je ALV poškodovana skupaj s SKV. Mehanizem poškodbe ALV je največkrat podoben ali enak mehanizmu poškodbe SKV, s klasično kombinacijo abdukcije kolena (valgus) in notranje rotacije golenice. Bolniki s poškodbo ALV imajo največkrat težave z anteriorno in rotacijsko nestabilnostjo kolena pri 90° fleksiji.

Raziskave so pokazale, da se mesto pri-rastišča ALV na proksimalnem delu golenice sklada z mestom iztrganja pri Segondovem zlomu, kar kaže, da bi lahko Segondov zlom predstavljal kostno avulzijo ALV (4). Segondov zlom je avulzijska poškodba anterolateralnega platoja golenice in vezi na lateralni strani kolenske sklepne ovojnice, ki jo pogosto spremlja ruptura SKV. Pogosto je pridružena tudi poškodba lateralnega meniskusa. Nastane zaradi forsirane notranje rotacije in varus stresa pri flektiranem kolenu (13).

DIAGNOSTIKA ANTEROLATERALNE VEZI

Poškodbo ALV, ki lahko spremlja poškodbo SKV, težko ugotovimo samo s kliničnim pregledom. Nanjo posumimo pri zelo izraženi notranjerotacijski nestabilnosti kolena, kar ocenimo s Pivot shift testom (12). Pri izolirani poškodbi SKV je povečan pomik golenice navzpred, kar ugotovimo s predalčnim testom, Pivot shift test pa ni vedno pozitiven. V primeru hkratne poškodbe SKV in ALV pa je Pivot shift test močno pozitiven, kar je najboljši klinični pokazatelj poškodbe ALV. Test je pozitiven, če pride do anteriorne subluksacije golenice. Poleg kliničnega pregleda sta metodi izbora za potrditev poškodbe ALV UZ in MRI. V primeru Segondovega zloma lahko poškodbo potrdimo tudi z RTG (slika 2). Claes in sodelavci so ALV z UZ najbolje prikazali ter sledili njenemu poteku v 90° fleksiji kolena in notranji rotaciji golenice (14). Z MRI so poškodbo ALV v večini primerov prikazali kot zadebelitev srednje tretjine lateralnega dela kolen-



Slika 2. RTG slika Segondovega zloma (9).

ske ovojnice. Poškodbo ALV je lažje potrditi v akutni fazi, takoj po poškodbi, kot pa v kronični fazi, ko se vez že delno zaraste (8, 14).

ZDRAVLJENJE

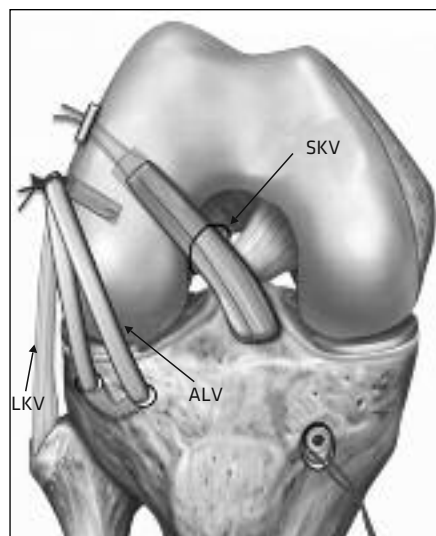
Konzervativno zdravljenje akutne poškodbe ALV je enako kot konzervativno zdravljenje akutne poškodbe SKV. Svežo poškodbo SKV in ALV tako zdravimo konzervativno s počitkom, hlajenjem, kompresijo in dvigom (angl. *rest, ice, compression, elevation, RICE*). V primeru izliva, ki ovira gibanje, sklep tudi punktiramo. Kadar so poškodovane še druge vezi, koleno tudi imobiliziramo z longeto ali ortozo. Ko se prične poškodba umirjati, poškodovanec prične z vajami naraščajoče jakosti. Po osmih tednih lahko prične postopno opravljati običajne dejavnosti. Znotrajsklepno ležeča SKV se po pretrganju spontano nikoli ne zaraste. ALV, ki je del sklepne ovojnice, se spontano zaceli, a ostane oslabela in podaljšana.

Kirurško rekonstrukcijo SKV največkrat opravimo z uporabo znotrajsklepne tehnike, za razliko od rekonstrukcije ALV, kjer se uporabijo zunajsklepne tehnike. To pomeni, da nad sklepno ovojnico napeljemo tetivo, mišično ovojnico, umetni material ali darovalsko vez, ki ima podobno lego in funkcijo kot izvorna ALV. Nedvoumni smernici, ki bi določale, da se ob rekonstrukciji SKV hkrati rekonstruira tudi ALV, še ni.

Lamair je že leta 1967 predstavil kombinacijo zunajsklepne in znotrajsklepne tehnike pri bolnikih s kroničnimi poškodbami SKV. Pri zunajsklepni tenodezi se uporabi distalni pas fascije late na Gerdijevem tuberklu, ki se ga postavi pod LKV in nato navije proksimalno skozi femoralni kanal (15). V drugi raziskavi Kannady in sodelavci za zunajsklepno tenodezo priporočajo presadek tetive *m. gracilis* ali *m. semitendinosus* (16). Zunajsklepna korekcija ALV ob rekonstrukciji SKV doda kolenu rotacijsko stabilnost, vendar hkrati lahko povzroči zapleta, kot sta togost in lateralna

bolečina z degenerativnimi spremembami (17, 18). Združena skupina strokovnjakov svetuje, da se za rekonstrukcijo ALV uporabi kitni presadek, ki je pritrjen na anatomsko ustrezno mesto na stegenici in v enem ali dveh snopih (trikotna oblika, δ - ali Y-konstrukcija) prehaja na golen (slika 3) (9). Dodatne raziskave, ki so spremljale kombinirano rekonstrukcijo SKV in ALV dve leti po operativnem posegu, so pokazale, da je to učinkovita metoda brez posebnih zapletov (19). Sonnery-Cotted in sodelavci so celo dokazali, da kombinirana rekonstrukcija SKV in ALV zmanjša možnost propada presadka SKV za 2,5–3,1-krat in pri vrhunskih športnikih poveča verjetnost vrnitve na raven pred poškodbo (20). Kljub temu so na področju rekonstrukcije ALV in njenem vplivu na rotacijsko nestabilnost kolena potrebne še dodatne raziskave in dolgotrajnejša pooperativna analiza.

Primerjava izolirane rekonstrukcije SKV ter kombinirane rekonstrukcije SKV in ALV z zunajsklepno tenodezo pri izoliranih



Slika 3. Kombinirana rekonstrukcija sprednje križne vezi in anterolateralne vezi ter prikaz poteka lateralne kolateralne vezi (9). SKV - sprednja križna vez, LKV - lateralna kolateralna vez, ALV - anterolateralna vez.

poškodbah SKV je pokazala majhne razlike (21). Zunajsklepna tenodeza je potrebna za ohranitev funkcije kolena v primeru hude rotacijske nestabilnosti, pri vrhunskih športnikih, kjer je koleno rotacijsko obremenjeno (smučanje, odbojka, nogomet, ragbi idr.), in pri revizijskih operacijah po ponovnih poškodbah. Naredimo jo tudi pri poškodovancih z močno pozitivnim Pivot shift testom in Segondovim zlomom. Z rekonstrukcijo ALV ob rekonstrukciji SKV zelo zmanjšamo verjetnost ponovnega pretrganja presadkov SKV (9, 20, 21).

ZAKLJUČEK

ALV je struktura v kolenski sklepni ovojnici z natančno določenim potekom (4). Čedalje več raziskav poudarja njeno vlogo pri zagotavljanju anterolateralne in rotatorne stabilnosti kolena (7, 8, 10, 15, 22). Pri

poškodbah SKV z močno pozitivnim Pivot shift testom je treba preveriti morebitno hkratno poškodbo ALV (12). Diagnozo največkrat postavimo klinično. Radiološko sta nam v največjo pomoč patognomoničen Segondov znak in MRI (4, 8, 22). Zaradi sprednje in rotacijske nestabilnosti kolena, ki je največja v 90° fleksiji, je pri aktivni populaciji priporočljiva kirurška rekonstrukcija SKV z zunajsklepno korekcijo (rekonstrukcija ALV). Kljub temu da natančnih smernic ni, je zunajsklepna korekcija priporočljiva predvsem v primeru hude rotacijske nestabilnosti in pri revizijskih operacijah po ponovnih poškodbah (22). V zadnjem obdobju je bila pozornost strokovne javnosti usmerjena predvsem v morfološke raziskave ALV, za natančno potrditev njene funkcije pa so potrebne nadaljnje biomehanske raziskave.

LITERATURA

1. Lenart IF. Zveze in vezi spodnje ekstremitete: kolenski sklep. In: Kobe V, Dekleva I, Lenart IF, et al. Anatomija: skripta za študente medicine. Del 1, kosti, sklepi, mišice. Ljubljana: Medicinska fakulteta; 2008. p. 127-30.
2. Veselko, M. Poškodbe kolena. In: Smrkolj V. Kirurgija. Celje: Grafika Gracer; 2014. p. 1493-7.
3. Amis AA. Anterolateral knee biomechanics. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2017; 25 (4): 1015-23.
4. Claes S, Luyckx T, Vereecke E, et al. The Segond fracture: a bony injury of the anterolateral ligament of the knee. *Arthroscopy.* 2014; 30 (11): 1475-82.
5. Claes S, Vereecke E, Maes M, et al. Anatomy of the anterolateral ligament of the knee. *J Anat.* 2013; 223 (4): 321-8.
6. Cavaignac E, Ancelin D, Chiron P, et al. Historical perspective on the "discovery" of the anterolateral ligament of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2017; 25 (4): 991-6.
7. Vincent JP, Magnussen RA, Gezmez F, et al. The anterolateral ligament of the human knee: an anatomic and histologic study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012; 20 (1): 147-52.
8. Van der Watt L, Khan M, Rothrauff BB, et al. The structure and function of the anterolateral ligament of the knee: a systematic review. *Arthroscopy.* 2015; 31 (3): 569-82.
9. Sonnery-Cottet B, Daggett M, Fayard JM, et al. Anterolateral Ligament Expert Group consensus paper on the management of internal rotation and instability of the anterior cruciate ligament - deficient knee. *J Orthop Traumatol.* 2017; 18 (2): 91-106.
10. Parsons EM, Gee AO, Spiekerman C, et al. The biomechanical function of the anterolateral ligament of the knee. *Am J Sports Med.* 2015; 43 (8): 669-74.
11. Dodds A, Halewood C, Gupte C, et al. Anterolateral ligament: anatomy, length changes and association with the Segond fracture. *Bone Joint J.* 2014; 96-B (3): 325-31.
12. Lubowitz JH, Provencher MT, Brand JC, et al. The knee anterolateral ligament. *Arthroscopy.* 2014; 30 (11): 1385-8.
13. Arneja SS, Furey MJ, Alvarez CM, et al. Segond fractures: not necessarily pathognomonic of anterior cruciate ligament injury in the pediatric population. *Sports Health.* 2010; 2 (5): 437-9.
14. Claes S, Bartholomeeusen S, Bellemans J. High prevalence of anterolateral ligament abnormalities in magnetic resonance images of anterior cruciate ligament-injured knees. *Acta Orthop Belg.* 2014; 80 (1): 45-9.
15. Ramaniraka NA, Saunier P, Siegrist O, et al. Biomechanical evaluation of intra-articular and extra-articular procedures in anterior cruciate ligament reconstruction: a finite element analysis. *Clin Biomech.* 2007; 22 (3): 336-43.
16. Kennedy MI, Claes S, Fuso FA, et al. The anterolateral ligament. *Am J Sports Med.* 2015; 43 (7): 1606-15.
17. Dejour D, Vanconcelos W, Bonin N, et al. Comparative study between mono-bundle bone-patellar tendonbone, double-bundle hamstring and mono-bundle bone-patellar tendon-bone combined with a modified Lemaire extra-articular procedure in anterior cruciate ligament reconstruction. *Int Orthop.* 2013; 37 (2): 193-9.
18. Devitt BM, Bouguennec N, Barfod KW, et al. Combined anterior cruciate ligament reconstruction and lateral extra-articular tenodesis does not result in an increased rate of osteoarthritis: a systematic review and best evidence synthesis. *Knee Surger Sports Traumatol Arthrosc.* 2017; 25 (4): 1149-60.
19. Sonnery-Cottet B, Thauinat M, Freychet B, et al. Outcome of a combined anterior cruciate ligament and anterolateral ligament reconstruction technique with a minimum 2-year follow-up. *Am J Sports Med.* 2015; 43 (7): 1598-605.
20. Sonnery-Cottet B, Saithna A, Cavalier M, et al. Anterolateral ligament reconstruction is associated with significantly reduced ACL graft rupture rates at a minimum follow-up of 2 years: a prospective comparative study of 502 patients from the SANTI study group. *Am J Sports Med.* 2017; 45 (7): 1547-57.
21. Ibrahim SA, Shohdy EM, Marwan Y, et al. Anatomic reconstruction of the anterior cruciate ligament of the knee with or without reconstruction of the anterolateral ligament a randomized clinical trial. *Am J Sports Med.* 2017; 45 (7): 1558-66.
22. Guenther D, Griffith C, Lesniak B, et al. Anterolateral rotatory instability of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2015; 23 (10): 2909-17.

Mark Jovanović¹, Marta Cvijić²

Novejše oblike elektrostimulacije srca

Novel Approaches to Cardiac Pacing

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: elektrostimulacija srca, podkožni vsadni kardioverter defibrilator, nosljivi zunanji kardioverter defibrilator, brezelektrodni srčni spodbujevalnik, modulator srčne kontraktilnosti

Že pred približno 60 leti se je s pojavom prvega srčnega spodbujevalnika in kasneje tudi vsadnega kardioverter defibrilatorja v klinični praksi postavil glavni steber zdravljenja motenj srčnega ritma. Z bliskovitim razvojem računalniške tehnologije na področju elektrostimulacije srca smo pridobili nove sodobne naprave, med katerimi je pomembno izpostaviti napravo za biventrikularno elektrostimulacijo srca, ki se uporablja za zdravljenje skupine bolnikov z napredovalim srčnim popuščanjem. Kljub številnim prednostim teh naprav pa smo se srečali tudi s številnimi ovirami pri njihovi uporabi in njihovimi pomanjkljivostmi, kar je raziskovalce spodbudilo k iskanju novih, alternativnih rešitev. V zadnjem desetletju so se na področju elektrostimulacije srca pojavili novi pristopi, ki so odpravili omejitve klasičnih naprav in so se v kliničnih raziskavah že izkazali kot potencialno uporabni. Podkožni vsadni kardioverter defibrilator, nosljivi zunanji kardioverter defibrilator, brezelektrodni srčni spodbujevalnik in modulator srčne kontraktilnosti predstavljajo novejše oblike elektrostimulacije srca. V članku so predstavljene omejitve in pomanjkljivosti klasičnih naprav, osnovna načela delovanja novejših oblik elektrostimulacije srca, njihove indikacije ter kontraindikacije in primerjane njihove prednosti ter slabosti s klasičnimi napravami.

ABSTRACT

KEY WORDS: artificial cardiac pacing, subcutaneous implantable cardioverter-defibrillator, wearable cardioverter-defibrillator, leadless pacemaker, cardiac contractility modulation

The invention of cardiac pacing and implantable cardioverter-defibrillator occurred approximately 60 years ago; nowadays both devices are still the mainstay treatment for cardiac arrhythmia. In recent years, the quick development of computer technology has led to the design of advanced devices with complex algorithms, and cardiac resynchronization therapy being of greatest importance in the treatment of a subgroup of patients who suffer from advanced heart failure. Despite the initial enthusiasm for technological advances in cardiac pacing devices, many limitations and implantation-related complications were recognized and encouraged medical scientists to find new solutions. In the last decade, many attempts to overcome device-related barriers have resulted in novel

¹ Mark Jovanović, dr. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; jovanovicmark9@gmail.com

² Dr. Marta Cvijić, dr. med., Klinični oddelek za kardiologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

approaches in pacing and the development of alternatives, such as the subcutaneous implantable cardioverter-defibrillator, wearable cardioverter-defibrillator, leadless pacemaker, and cardiac contractility modulation. The following article presents limitations and implantation-related complications of classic devices, describes alternatives and discusses their basic mechanisms of functioning, their indications, contraindications, and compares their advantages and disadvantages over classic devices.

UVOD

Prvi poskusi uporabe zunanje elektrostimulacije za spodbujanje srca segajo v prvo polovico 20. stoletja (1). Leto 1958 označujemo kot začetek elektrostimulacije srca, saj so takrat vstavili prvi srčni spodbujevalnik. Razumevanje motenj ritma in napredki v računalniški tehnologiji so v 70. letih prejšnjega stoletja pripeljali do razvoja prvega vsadnega defibrilatorja. Vsadni kardioverter defibrilatorji (angl. *implantable cardioverter defibrillator*, ICD) so v klinično uporabo prišli po letu 1980. Od takrat do danes je ICD postal temeljni kamen zdravljenja nenadne srčne smrti, saj je pomembno zmanjšal celokupno umrljivost tako v primarni kot v sekundarni preventivi. V zadnjih 30 letih je tehnologija na področju elektrostimulacije izjemno napredovala in danes imamo na voljo sodobne naprave, ki vsebujejo zmogljive diagnostične algoritme, možnost nadzora na daljavo (angl. *telemonitoring*) in možnost uporabe MRI. Hkrati je prišlo tudi do razvoja naprav za biventrikularno elektrostimulacijo srca (angl. *cardiac resynchronization therapy*, CRT), ki jih uporabljamo za zdravljenje napredovanega simptomatskega srčnega popuščanja pri bolnikih s širokimi kompleksi QRS in iztisnim deležem levega prekata < 35 % (2). CRT nam omogoča, da s hkratnim proženjem v obeh prekatih dosežemo usklajeno krčenje prekatov in izboljšanje iztisne funkcije levega prekata ter posledično izboljšanje funkcionalne zmogljivosti in preživetja bolnikov s srčnim popuščanjem. Kljub izredni učinkovitosti naprav za CRT pa jih spremljajo tudi mnoge pomanjkljivosti (za-

pleti ob vsaditvi in izpostavljenost sevanju, omejitve pri izboru ustreznih kandidatov, neustrezno proženje ICD itd.) (2, 3).

V zadnjih desetih letih so se na področju elektrostimulacije srca pojavile številne novosti, ki so se v kliničnih raziskavah izkazale kot potencialno uporabne pri odpravljanju omejitev klasičnih naprav za elektrostimulacijo, kot sta prvotni srčni spodbujevalnik in ICD (3). V članku želimo predstaviti noveje oblike elektrostimulacije, kot so podkožni vsadni kardioverter defibrilator (angl. *subcutaneous implantable cardioverter defibrillator*, S-ICD), nosljivi zunanji kardioverter defibrilator (angl. *wearable cardioverter defibrillator*, WCD), brez elektrodni srčni spodbujevalnik (angl. *leadless pacemaker*) in modulator srčne kontraktilnosti (angl. *cardiac contractility modulation*, CCM), ki so v Sloveniji šele prišle v uporabo ali bodo kmalu.

PODKOŽNI VSADNI KARDIOVERTER DEFIBRILATOR

Transvenska vstavev ICD je invazivni poseg, ki je povezan s povečanim tveganjem za zaplete. Zapleti so lahko nenadni, povezani s samo vstavitvijo (poškodba velikih žil, krvavitev, pnevmotoraks, hematotoraks, tamponada srca, predrtje srčne mišice), ali pa se lahko pojavijo kadarkoli v času po vstavitvi ICD (premiki elektrod, poškodba/zlom elektrode, venska tromboza zgornje okončine, okužba ležišča baterije ali elektrod). Glede na podatke iz literature je pri S-ICD delež zgodnjih zapletov, povezanih z elektrodami, pomembno nižji (4). Kot dolgoročni problem je potrebno izpostavi-

ti tudi okužbe sistema ICD, ki bodo verjetno v prihodnosti vse pogostejše, saj ima napravo za elektrostimulacijo vstavljeno vse več ljudi z vstavljenimi tudi drugimi umetnimi materiali, z večjim tveganjem za okužbe pa je povezano tudi menjavanje iztrošene baterije. V primeru okužbe sistema ICD ali odpovedi elektrode je potrebno odstraniti elektrodo, kar je prav tako povezano z možnostjo dodatnih zapletov (do 1 %), vendar z nizko umrljivostjo (do 0,3 % v centrih z izkušenim osebjem) (5). Glede na omejene pomanjkljivosti klasičnega sistema ICD se S-ICD z elektrodo izven srčnih votlin in žilnega sistema zdi zanesljiva in varna alternativa transvenski vstavitvi ICD, predvsem pri bolnikih z nenormalnim potekom osrednjih ven, bolnikih z okužbami na vstavljenih ICD in imunsko oslabljenih bolnikih (6, 7). Vsi bolniki, ki so kandidati za

vstavitev S-ICD, morajo poleg klasičnih kriterijev za vstavitev ICD izpolnjevati še dodatne kriterije, ki so natančneje opisani v tabeli 1.

Sistem S-ICD vsebuje pulzni generator in tripolarno parasternalno elektrodo, ki ima dve komponenti za zaznavanje, eno proksimalno ob ksifoidnem izrastku in drugo distalno ob manubriosternalnem stiku, ter vmesno komponento za defibriliranje (slika 1). Pulzni generator je vstavljen pod kožo med peti in šesti medrebrni prostor ter med sprednjo in srednjo aksilarno linijo. Elektroda leži vzporedno z levim robom prsnice in približno 1–2 cm stran od nje.

Pred vstavitvijo S-ICD je najprej potrebno izbrati bolnike, pri katerih bo S-ICD primerno zaznaval električno aktivnost srca. Za izbiro kandidatov se uporablja presejalni test, pri katerem lahko s snemanjem

Tabela 1. Trenutne indikacije in omejitve pri izbiri kandidatov za podkožni vsadni kardioverter defibrilator (11, 12). S-ICD – podkožni vsadni kardioverter defibrilator (angl. *subcutaneous implantable cardioverter defibrillator*), ICD – vsadni kardioverter defibrilator (angl. *implantable cardioverter defibrillator*), CRT – naprava za biventrikularno elektrostimulacijo srca (angl. *cardiac resynchronization therapy*).

S-ICD kot prva izbira

Otroci in odrasli s prirojeno srčno boleznijo brez venskega dostopa

Pridobljena stenoza ali obstrukcija osrednjih ven

Endokarditis ali okužba naprave ICD v preteklosti

Bolniki na dializi, imunsko oslabljeni bolniki, bolniki z rakom, bolniki s stalnim osrednjim katetrom

Kandidati za presaditev srca

S-ICD kot smiselna izbira

Mladi bolniki z aktivnim življenjskim slogom in pričakovano dolgo življenjsko dobo

Dedni genetski aritmogeni sindromi (sindrom zgodnje repolarizacije)

Umetna srčna zaklopka (tveganja za okužbo)

Omejitve pri izbiri S-ICD

Neuspešen presejalni test ustreznega zaznavanja kompleksov QRS pred vsaditvijo

Simptomatska bradikardija, ki zahteva stalno elektrostimulacijo srca

Poprej vstavljen unipolarni spodbujevalnik (motnje v zaznavi)

Bolniki s srčnim popuščanjem, ki so kandidati za vstavitev CRT

Ponavljajoča se obstojna monomorfna prekatna tahikardija, ki se prekinja z antitahikardno elektrostimulacijo

Anatomske posebnosti: suhi bolniki z malo podkožnega maščevja, lijakast prsni koš



Slika 1. RTG podkožnega vsadnega kardioverter defibrilatorja pri bolnici z dekstrokardijo. G – pulzni generator, S – sekundarni vektor, P – primarni vektor, A – alternativni vektor, E – parasternalna elektroda.

površinskega EKG posredno preko amplitude kompleksa QRS napovemo, ali bo S-ICD primerno zaznaval električno aktivnost srca. Ocenjuje se, da naj bi bilo približno 85 % bolnikov z indikacijo za vstavev klasičnega ICD hkrati primernih tudi za vstavev S-ICD (8).

S-ICD analizira srčni ritem iz enega izmed izbranih vektorjev zaznavanja, ki se oblikujejo med elektrodo in pulznim generatorjem (slika 1). Glede na njihovo lego poznamo tri različne vektorje: primarni vektor (od proksimalnega dela elektrode do pulznega generatorja), sekundarni vektor (od vrha elektrode do pulznega generatorja) ter alternativni vektor (od vrha do proksimalnega dela elektrode).

Pulzni generator vsebuje algoritem, ki omogoči razlikovanje med nadpreklatnimi in prekatnimi tahikardijami. S-ICD ima možnost razpoznave in prekinitve motnje ritma v dveh različnih območjih, ki se individualno nastavita med 170 in 250 utripov/min. V brezpogojnem območju (običajno nad 210 utripov/min) S-ICD sproži defibrilacijo ne glede na motnjo ritma. V pogojnem območju (običajno med 180 in 210 utripov/min)

pa S-ICD glede na algoritem razpoznave omogoča ločevanje med nadpreklatnimi in prekatnimi tahikardijami in nato ustrezno sproži defibrilacijo v primeru prekatne tahikardije. Ko naprava zazna prekatno aritmijo, lahko sproži do pet zaporednih bifaznih šokov z maksimalno energijo 80 J. S-ICD ne omogoča antitahikardne elektrostimulacije, lahko pa zagotovi kratkotrajno elektrostimulacijo (s frekvenco 50 utripov/min za 30 s) po sproženem šoku v primeru asistolije, ki je daljša od 3,5 s. Trenutno dostopni podatki kažejo, da je S-ICD zelo učinkovit pri prekinitvi življenjsko ogrožajoče prekatne motnje ritma (9).

Čeprav je energija šokov, ki jih proži S-ICD (80 J), višja v primerjavi z energijo šokov klasičnega ICD (20–35 J), se je izkazalo, da S-ICD povzroči manj poškodb na oslabelem srcu, saj se energija šoka enakomerno porazdeli po celotni srčni mišici (10). Natančnejša primerjava ostalih osnovnih razlik med ICD in S-ICD je prikazana v tabeli 2.

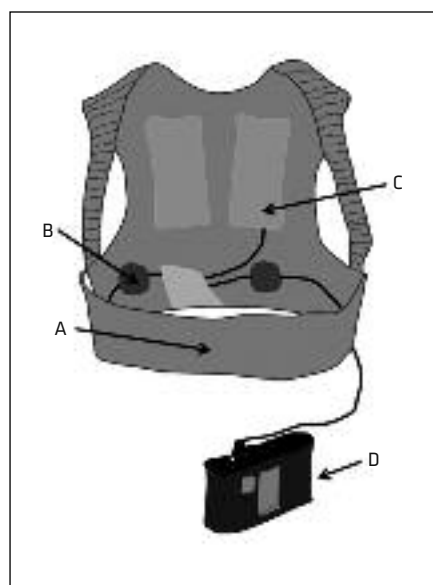
NOSLJIVI ZUNANJI KARDIOVERTER DEFIBRILATOR

WCD ponuja številne rešitve pri preprečevanju nenadne srčne smrti v časovnih oknih, ko vstavev klasičnega ICD po trenutno veljavnih smernicah ni indicirana (npr. neposredno po revaskularizaciji) oz. je kontraindicirana (npr. aktivne okužbe) (13). Kot primer lahko navedemo, da je po trenutnih evropskih smernicah za diagnostiko in zdravljenje srčnega popuščenja priporočena vstavev ICD šele 40 dni po miokardnem infarktu pri tistih bolnikih, ki imajo ishemično kardiomiopatijo v funkcijskem razredu II ali III po lestvici NYHA (New York Heart Association) z iztisnim deležem levega prekata $\leq 35\%$. Tveganje za nenadno srčno smrt je pri teh bolnikih v zgodnjem poinfarktne obdobju sicer povečano, vendar dosedanje raziskave niso pokazale pomembnega znižanja celokupne umrljivosti ob vstavitvi ICD v zgodnjem poinfarktne obdobju (13–15).

Tabela 2. Osnovne razlike med podkožnim vsadnim kardioverter defibrilatorjem in vsadnim kardioverter defibrilatorjem (12). S-ICD – podkožni vsadni kardioverter defibrilator (angl. *subcutaneous implantable cardioverter defibrillator*), ICD – vsadni kardioverter defibrilator (angl. *implantable cardioverter defibrillator*), RTG – rentgensko slikanje.

	S-ICD	ICD
Elektrode znotraj srca in žil	ne	da
Zapleti ob vsaditvi	redki	pogostejši
Kontrolni RTG prsnih organov po vsaditvi	ni potreben	obvezen
Okužbe vstavljene naprave	nižje tveganje, lažje obvladljive	višje tveganje, težje obvladljive
Poškodba srčne mišice ob proženju defibrilacije	zanemarljiva	večja
Delež bolnikov, primernih za vsaditev	približno 90 %	skoraj vsi
Neustrezno proženje defibrilacije	4–25 %	20–30 %
Čas, potreben za proženje defibrilacije	0,14–0,20 s	0,07–0,09 s
Sposobnost elektrostimulacije	ne	da
Antitahikardna elektrostimulacija	ne	da
Spremljanje preddvornih motenj ritma	ne	da
Velikost pulznega generatorja	69 cm ³ /145 g	30 cm ³ /70 g
Obstojnost baterije	do 5 let	do 10 let
Stroški	visoki	srednji/nizki

Naprava WCD je sestavljena iz nosljive obleke, ki ima vgrajene štiri proste elektrode in tri lepilne elektrode, dve zadaj in eno v projekciji srčne konice. Vsaka elektroda vsebuje deset kapsul, napolnjenih z gelom, ki se sprostito ob proženju šoka. Poleg obleke z elektrodami sestavlja WCD tudi ohišje defibrilatorja, na katerem najdemo gumb za izklop alarma, kondenzator in zaslon za prikaz EKG (slika 2). Obstojnost baterije je približno 24 ur. Ko WCD zazna prekatno tahikardijo ali prekatno fibrilacijo, naprava sproži alarm v obliki vibracij in zvoka. Če v 20 s od nastanka alarma bolnik ne pritisne gumba, naprava sproži šok. WCD lahko proži do pet bifaznih zaporednih šokov z energijo 150 J in lahko zazna prekatno tahikardijo ali prekatno fibrilacijo v 5–10 s od časa njenega nastanka. Opazovalne, nerandomizirane raziskave so pokazale nižjo umrljivost pri bolnikih po miokardnem infarktu ali revaskularizaciji, ki so nosili WCD (16, 17).



Slika 2. Sestavni deli nosljivega zunanega kardioverter defibrilatorja. A – nosljiva obleka, B – v nosljivi obleki vgrajene štiri proste elektrode, C – v nosljivi obleki vgrajene tri lepilne elektrode, D – ohišje defibrilatorja.

Dosedanje klinične raziskave so podprle uporabnost in učinkovitost WCD v naslednjih primerih (17–19):

- Uporaba WCD je smiselna, kadar je bolnik glede na trenutno veljavne smernice kandidat za vstavev ICD, hkrati pa je pri njem prisotna aktivna okužba.
- Pri bolnikih po miokardnem infarktu in z močno znižanim iztisnim deležem lahko WCD služi kot premostitvena terapija prvih 40 dni po miokardnem infarktu do vstavitve ICD.
- Zaščita bolnikov z močno znižanim iztisnim deležem levega prekata pred nenadno srčno smrtjo prvih 90 dni po kirurški ali perkutani revaskularizaciji, ko vstavev ICD ni izboljšala celokupnega preživetja bolnikov.
- Prve tri mesece po novo ugotovljenem srčnem popuščanju z močno znižanim iztisnim deležem in uvedbi zdravljenja z zdravili, ko je napoved izida izboljšanja funkcije levega prekata še neopredeljena.
- Kot premostitveno zdravljenje v akutni fazi bolezni pri tistih kardiomiopatijah z močno znižanim iztisnim deležem levega prekata, ki se lahko popravijo po zdravljenju z zdravili (poporodna kardiomiopatija, stresna kardiomiopatija, miokarditis, alkoholna kardiomiopatija, kardiomiopatija po citotoksičnih zdravilih).
- WCD lahko služi kot premostitveno zdravljenje do presaditve pri bolnikih, ki so kandidati za presaditev srca.

Uporaba WCD ni priporočena v naslednjih primerih (17, 19, 20):

- Ko je tveganje za smrt zaradi drugega vzroka bistveno večje kot tveganje za nenadno srčno smrt (to so predvsem bolniki, pri katerih pričakovana življenjska doba ne presega šest mesecev).
- Pri bolnikih s srčnim spodbujevalnikom, nastavljenim na unipolarni način spodbujanja (v tem primeru lahko WCD neustrezno zaznava motnje srčnega ritma).

- Nezmožnost bolnika, da se odzove na zvočni alarm WCD.

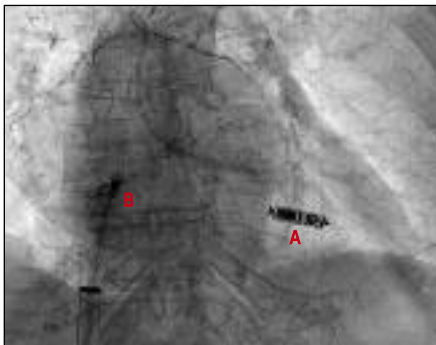
Največja prednost WCD v primerjavi z ICD je prav gotovo odsotnost zapletov, povezanih z vstavitvijo defibrilatorja, saj pri namestitvi WCD ni posegov v telo, hkrati pa se ga lahko kadarkoli enostavno odstrani. Prav ta enostavna odstranitev naprave pa je povezana z njeno glavno pomanjkljivostjo, in sicer slabim sodelovanjem bolnikov. Rezultati evropskega registra WCD so pokazali, da v skoraj polovici centrov, kjer že uporabljajo WCD, slednjega bolniki nosijo manj kot 90 % časa (20, 21). Kot razlog največkrat navajajo neudobnost naprave in slabšo kakovost spanja. Naslednji pomanjkljivosti sta razmeroma dolgo obdobje med zaznavo motnje ritma in prožitvijo šoka (okoli 45–55 s) ter nezmožnost elektrostimulacije srca po proženem šoku WCD. Hkrati pa je z vsako prožitvijo šoka potrebno zamenjati WCD (20).

BREZELEKTRODNI SRČNI SPODBUJEVALNIK

Vstavev srčnega spodbujevalnika je edina oblika zdravljenja bradikardnih motenj ritma in se uspešno uporablja že približno 50 let. Kljub svoji terapevtski učinkovitosti pa prinaša tudi nekatere zaplete in pomanjkljivosti, ki so največkrat povezani z vstavitvijo transvenskih elektrod in generatorja. Pogostost zapletov v perioperativnem in zgodnjem pooperativnem obdobju po vstavitvi spodbujevalnika (hematom, premiki elektrod, motnje v interakciji generatorja in elektrod, lokalne in sistemske okužbe, pnevmotoraks itd.) znaša po nekaterih kliničnih raziskavah tudi do 10 % (22). V zadnjem desetletju je razvoj na področju elektronike spodbujevalnika omogočil zmanjšanje velikosti naprave v zgolj kapsulo in njeno vstavev preko venskega katetra iz femoralne vene v desni prekat (slika 3). Tako brez-elektrodni srčni spodbujevalnik predstavlja dobro alternativo klasičnemu, saj je uspel

zmanjšati pogostost zapletov skoraj za polovico. V dosedanjih raziskavah je brez-elektrodni srčni spodbujevalnik pokazal spodbudne rezultate glede varnosti in učinkovitosti, ki sta primerljivi s klasičnim spodbujevalnikom (23–25). Naprava za brez-elektrodno srčno spodbujanje ima obliko majhne kapsule, v kateri sta pulzni generator in elektroda, na konici kapsule pa je sistem za pričvrstitev elektrode v srčno mišico desnega prekata (slika 3, slika 4).

V klinični uporabi sta trenutno dva brezelektrodna srčna spodbujevalnika, St. Jude Medical Nanostim™ LCP (angl. *lead-*



Slika 3. RTG postopka vstavitve brezelektrodnega srčnega spodbujevalnika v konico desnega prekata. Na sliki vidimo venski kateter in vodili v spodnji votli veni, s katerimi se je izvajala vstavitev spodbujevalnika. A - brezelektrodni srčni spodbujevalnik, B - venski kateter in vodili.



Slika 4. Naprava za brezelektrodno srčno spodbujanje ima obliko majhne kapsule s sistemom za pričvrstitev elektrode v srčno mišico (velikosti 25,9 mm). A - sistem za pričvrstitev elektrode.

less cardiac pacemaker) in Medtronic Micra™ TPS (angl. *transcatheter pacing system*). Tretji spodbujevalnik, ki je še v fazi preizkušanja, pa bo lahko sodeloval tudi s S-ICD, kar bo omogočilo kombinacijo trajne elektrostimulacije srca in antitahikardno terapijo. S skupno obdelavo podatkov o električni aktivnosti srca se pričakuje boljša razpoznavna motenj ritma in manj neustreznih šokov defibrilatorja (26).

V zadnjih evropskih smernicah o zdravljenju s srčnimi spodbujevalniki in CRT iz leta 2013 možnost uporabe elektrodnega srčnega spodbujevalnika pri bolnikih z bradikardno motnjo ritma še ni bila omenjena. Glede na trenutne podatke raziskav se vstavitve brezelektrodnega srčnega spodbujevalnika zdi smiselna pri bolnikih, ki (26, 27):

- jim zadostuje le prekatna elektrostimulacija (kronična atrijska fibrilacija z bradikardnim odgovorom, napredovali atrio-ventrikularni blok pri slabše pokretnih bolnikih, nepojasnjene sinkope in dokazana motnja prevajanja z elektrofiziološko preiskavo),
- imajo visoko tveganje za okužbo ali ponavljajoče se okužbe spodbujevalnika,
- imajo omejen venski dostop,
- so imeli večkratno odstranitev klasičnega spodbujevalnika v preteklosti, ali
- so mladi, telesno aktivni bolniki, ki potrebujejo samo prekatno elektrostimulacijo.

Pri izbiri bolnikov moramo biti pozorni tudi na določene omejitve, ki so povezane z brez-elektrodnim srčnim spodbujevalnikom; ta namreč ni primeren za bolnike z boleznijo sinusnega vozla in motnjo prevajanja atrio-ventrikularnega vozla, saj ti bolniki potrebujejo sočasno elektrostimulacijo preddvorov in prekatov. Pomembna je dobra izbira kandidatov, da se izognemo perikardnemu izlivu in perforaciji srca, ki sta najpomembnejša zapleta vstavitve brezelektrodnega srčnega spodbujevalnika (27, 28). Trenutno še nimamo zadostnih podatkov, ali se lahko vstavi več spodbujevalnikov v prekat in

ali obstaja možnost morebitnih medsebojnih interakcij in motenj v delovanju med vstavljenimi napravami. Preizkuša se možnost sočasne uporabe brezelektrodnega srčnega spodbujevalnika in S-ICD ter možnost komunikacije med napravama pri skupini bolnikov z bradikardijo, ki imajo zaradi potrebe po stalni elektrostimulaciji srca kontraindikacijo za vstavitev S-ICD (27, 29).

Prednosti brezelektrodnega srčnega spodbujevalnika v primerjavi s klasičnim srčnim spodbujevalnikom so naslednje (27):

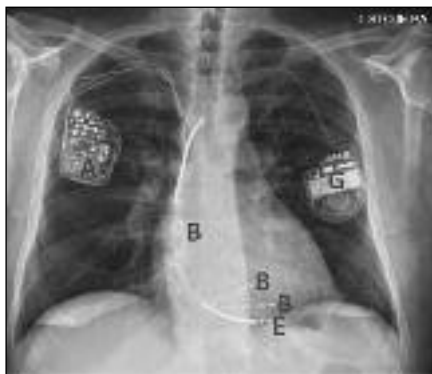
- Manj zapletov, povezanih z vstavitvijo elektrode v desni prekat (pnevmotoraks, premik elektrode, venska tromboza in obstrukcija, trikuspidalna regurgitacija, okužbe).
- Ni zapletov na mestu baterije klasičnega srčnega spodbujevalnika (hematom, kožna erozija, okužbe).
- Estetski vidik.
- Obstočnost baterije je daljša oz. primerljiva s klasičnim spodbujevalnikom.
- Brezelektrodni srčni spodbujevalnik ni kontraindikacija za MRI.
- Operater prejme manjšo dozo sevanja med vsaditvijo.

Glavni pomanjkljivosti brezelektrodnih srčnih spodbujevalnikov sta pomanjkanje podatkov o učinkovitosti, varnosti in dolgoročni napovedi izida bolezni (trenutno le tri nerandomizirane klinične raziskave) ter pomanjkanje priporočil za obravnavno bolnika po iztrošeni bateriji spodbujevalnika. Zaradi transvenske vstavitve preko femoralne vene se lahko pojavijo zapleti, povezani s punkcijo na vbodnem mestu. Glede na literaturo je pogostost perikardnega izliva in perforacije srca ob vstavitvi primerljiva s klasičnim spodbujevalnikom (27, 30). Glavna omejitev uporabe brezelektrodnega srčnega spodbujevalnika je trenutno tudi desetkrat višja cena v primerjavi s klasičnim spodbujevalnikom (27).

MODULATOR SRČNE KONTRAKTILNOSTI

Glede na trenutno veljavne smernice je zdravljenje srčnega popuščanja z napravo CRT omejeno na bolnike v funkcijskem razredu NYHA II–IV, s širokim kompleksom QRS (> 120 ms) in iztisnim deležem levega prekata $< 35\%$. Pri približno 30% bolnikov, ki jim vstavimo CRT, ne pride do izboljšanja srčnega popuščanja. Po drugi strani pa približno 80% bolnikov s srčnim popuščanjem in iztisnim deležem levega prekata $< 35\%$ ne izpolnjuje kriterijev za vstavitev CRT (31–33). Tako CCM predstavlja obetajoč nov način zdravljenja simptomatskega srčnega popuščanja pri tistih bolnikih, ki ne izpolnjujejo kriterijev za zdravljenje s CRT, in tistih, pri katerih po vstavitvi CRT ni prišlo do izboljšanja. Do sedaj je bilo po svetu vstavljenih približno 3.000 naprav za CCM z ugodnimi rezultati glede varnosti in učinkovitosti naprave (34–36).

Napravo sestavljajo pulzni generator in tri elektrode (slika 5). Dve elektrodi za spodbujanje sta v desnem prekatu, s koni-



Slika 5. RTG bolnika z modulatorjem srčne kontraktilnosti. Bolnik ima tudi vstavljen vsadni kardioverter defibrilator. A – pulzni generator naprave za modulator srčne kontraktilnosti, B – elektroda naprave za modulator srčne kontraktilnosti, E – elektroda vsadnega kardioverter defibrilatorja, G – generator vsadnega kardioverter defibrilatorja.

co pritrjeni na zgornjo in srednjo tretjino prekatnega pretina, tretja elektroda pa je nameščena v desni preddvor in je namenjena zaznavanju. Postopek vstavitve naprave je podoben kot pri srčnih spodbujevalnikih. Naprava je običajno nameščena na desni strani prsnega koša, saj ima mnogo bolnikov na levi strani že predhodno vstavljen ICD. Med vstavitvijo naprave za CCM je potrebno izključiti morebitne interakcije med CCM in ICD, da ne bi prišlo do motenj v delovanju obeh naprav. Naprava za CCM vsebuje še zunanjo enoto, ki omogoča polnjenje baterije pulznega generatorja z zunanjim virom energije (35).

Naprava za CCM se od ostalih vsadnih naprav za elektrostimulacijo razlikuje tudi po tem, da proži bifazni, visokonapetostni električni impulz (napetost impulza 7,5 V, trajanje impulza 22 ms) v absolutni refraktarni dobi srčnega cikla in zato ne povzroči mišičnih kontrakcij. Hkrati pa je elektrostimulacija omejena na 5–12 ur na dan. Energija električnega impulza je od 50- do 100-krat višja kot pri klasičnem srčnem spodbujevalniku (35, 37).

Na celičnem nivoju naj bi CCM preko aktivacije celičnih mehanizmov vplival na izrabo kalcija (35, 37):

- Akutni učinek je izboljšanje privzema kalcija v sarkoplazemski retikulum.
- Kronični učinek je modulacija izražanja genov, ki vplivajo na fosforilacijo fosfolambana in izražanje kalcijeve črpalke sarkoplazemskega retikuluma (angl. *sarcoendoplasmic reticulum calcium transport adenosine triphosphatase*, SERCA) na membrani sarkoplazemskega retikuluma, kar izboljša kontraktlnost srčne mišice brez povečane porabe kisika v srčni mišici.

Hitri učinek CCM nastopi že po 5–12 urah in se kaže kot 20-odstotno povečanje mak-

simalne hitrosti naraščanja tlaka v levem prekatu (dp/dt_{max}) (35, 37). Raziskave so pokazale bistveno izboljšanje simptomatike srčnega popuščanja pri bolnikih z vstavljenno napravo za CCM (zmanjšanje dispneje, boljša zmogljivost), medtem ko učinek na remodelacijo levega prekata in izboljšanje iztisnega deleža levega prekata ni bil zelo izražen (izboljšanje iztisnega deleža levega prekata okoli 5 %). Prav tako pa do sedaj opravljene raziskave niso dokazale pomembnega zmanjšanja umrljivosti pri bolnikih s srčnim popuščanjem in vstavljenno napravo za CCM (35, 38).

Glede na dosedanje raziskave se vstavitve naprave za CCM zdi koristna predvsem pri bolnikih s simptomatskim srčnim popuščanjem v funkcijskem razredu NYHA II ali III, iztisnim deležem levega prekata < 35 % ter širino kompleksa QRS < 120 ms. Uporaba CCM je trenutno omejena le na bolnike v sinusnem ritmu, saj je za uspešno prženje impulza potrebno zaznavanje valov P. Hkrati pa je potrebna tudi previdnost pri bolnikih z že predhodno vstavljenno napravo za elektrostimulacijo (ICD, CRT), saj lahko pride do interakcij z napravo in motenj v zaznavanju (35).

ZAKLJUČEK

Novejše oblike elektrostimulacije srca predstavljajo pomembno iztočnico za nadaljnje klinične raziskave, ki bodo še podkrepile uporabnost in učinkovitost v članku omenjenih naprav ter povečale krog kandidatov, ki bi bil primeren za tovrstno obliko zdravljenja. Zaradi staranja prebivalstva ter porasta bolezni srca in ožilja so novosti na področju zdravljenja motenj srčnega ritma še kako pomembne in upajmo, da se jih bo velik del z dobrimi rezultati v kliničnih raziskavah uveljavil v vsakdanji klinični praksi, tudi v Sloveniji.

LITERATURA

1. Aquilina O. A brief history of cardiac pacing. *Images Paediatr Cardiol.* 2006; 8 (2): 17–81.
2. Abraham WT, Fisher WG, Smith AL, et al. Cardiac resynchronization in chronic heart failure. *N Engl J Med.* 2002; 346 (24): 1845–53.
3. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J.* 2016; 37 (27): 2129–200.
4. Swerdlow CD, Kalahasty G, Ellenbogen KA. Implantable cardiac defibrillator lead failure and management. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 67 (11): 1358–68.
5. Boersma L, Burke MC, Neuzil P, et al. Infection and mortality after implantation of a subcutaneous ICD after transvenous ICD extraction. *Heart Rhythm.* 2016; 13 (1): 157–64.
6. Burke MC, Gold MR, Knight BP, et al. safety and efficacy of the totally subcutaneous implantable defibrillator: 2-year results from a pooled analysis of the IDE Study and EFFORTLESS registry. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 65 (16): 1605–15.
7. Brouwer TF, Yilmaz D, Lindeboom R, et al. Long-term clinical outcomes of subcutaneous versus transvenous implantable defibrillator therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 68 (19): 2047–55.
8. Randles DA, Hawkins NM, Shaw M, et al. How many patients fulfil the surface electrocardiogram criteria for subcutaneous implantable cardioverter-defibrillator implantation? *Europace.* 2014; 16 (7): 1015–21.
9. Sponder M, Khazen C, Dichtl W, et al. Specific indications and clinical outcome in patients with subcutaneous implantable cardioverter-defibrillator (ICD) - a nationwide multicentre registry. *Eur J Intern Med.* 2018; 48: 64–8.
10. D'Onofrio A, Russo V, Bianchi V, et al. Effects of defibrillation shock in patients implanted with a subcutaneous defibrillator: a biomarker study. *Europace.* 2018; 20 (F12): F233–F9.
11. Gold MR, Theuns DA, Knight BP, et al. Head-to-head comparison of arrhythmia discrimination performance of subcutaneous and transvenous ICD arrhythmia detection algorithms: the START study. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2012; 23 (4): 359–66.
12. De Maria E, Olaru A, Cappelli S. The entirely subcutaneous defibrillator (S-Icd): state of the art and selection of the ideal candidate. *Curr Cardio Rev.* 2015; 11 (2): 180–6.
13. Hess PL, Laird A, Edwards R, et al. Survival benefit of primary prevention implantable cardioverter-defibrillator therapy after myocardial infarction: does time to implant matter? A meta-analysis using patient-level data from 4 clinical trials. *Heart Rhythm.* 2013; 10 (6): 828–35.
14. Priori SG, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A, et al. 2015 ESC guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: the task force for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur Heart J.* 2015; 36 (41): 2793–867.
15. Pouleur A, Barkoudah E, Uno H, et al. Pathogenesis of sudden unexpected death in a clinical trial of patients with myocardial infarction and left ventricular dysfunction, heart failure, or both. *Circulation.* 2010; 122 (6): 597–602.
16. Køber L, Thune JJ, Nielsen JC, et al. Defibrillator implantation in patients with nonischemic systolic heart failure. *N Engl J Med.* 2016; 375 (13): 1221–30.
17. Duncker D, Veltmann C. The wearable cardioverter/defibrillator – toy or tool? *J Atr Fibrillation.* 2016; 8 (6): 1367.
18. Kutiyfa V, Moss AJ, Klein H, et al. Use of the wearable cardioverter defibrillator in high-risk cardiac patients data from the prospective registry of patients using the wearable cardioverter defibrillator (WEARIT-II registry). *Circulation.* 2015; 132 (17): 1613–9.
19. Barschesht A, Kutiyfa V, Vamvouris T, et al. Study of the wearable cardioverter defibrillator in advanced heart-failure patients (SWIFT). *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2017; 28 (7): 778–84.
20. Piccini JP, Allen LA, Kudenchuk PJ, et al. Wearable cardioverter-defibrillator therapy for the prevention of sudden cardiac death: a science advisory from the American Heart Association. *Circulation.* 2016; 133 (17): 1715–27.
21. Lenarczyk R, Potpara TS, Haugaa KH, et al. The use of wearable cardioverter-defibrillators in Europe: results of the European Heart Rhythm Association survey. *Europace.* 2016; 18 (1): 146–50.
22. Kirkfeldt RE, Johansen JB, Nohr EA, et al. Complications after cardiac implantable electronic device implantations: an analysis of a complete, nationwide cohort in Denmark. *Eur Heart J.* 2014; 35 (18): 1186–94.

23. Duray GZ, Ritter P, El-Chami M, et al. Long-term performance of a transcatheter pacing system: 12-month results from the Micra Transcatheter Pacing Study. *Heart Rhythm*. 2017; 14 (5): 702–9.
24. Reddy VY, Knops RE, Sperzel J, et al. Permanent leadless cardiac pacing: results of the LEADLESS trial. *Circulation*. 2014; 129 (14): 1466–71.
25. Knops RE, Tjong FVY, Neuzil P, et al. Chronic performance of a leadless cardiac pacemaker: 1-year follow-up of the LEADLESS trial. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65: 1497–504.
26. Reddy VY, Exner DV, Cantillon DJ, et al. Percutaneous implantation of an entirely intracardiac leadless pacemaker. *N Engl J Med*. 2015; 373 (12): 1125–35.
27. Sideris S, Archontakis S, Dilaveris P, et al. Leadless cardiac pacemakers: current status of a modern approach in pacing. *Hellenic J Cardiol*. 2017; 58 (6): 403–10.
28. Vamos M, Erath JW, Benz AP, et al. Incidence of cardiac perforation with conventional and with leadless pacemaker systems: a systematic review and meta-analysis. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2017; 28 (3): 336–46.
29. Al-Khatib SM, Stevenson WG, Ackerman MJ, et al. 2017 AHA/ACC/HRS guideline for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. *Heart Rhythm*. 2018; 15 (10): E73–E189.
30. Lakkireddy D, Knops R, Atwater B, et al. A worldwide experience of the management of battery failures and chronic device retrieval of the Nanostim leadless pacemaker. *Heart Rhythm*. 2017; 14 (12): 1756–63.
31. McAlister FA, Tu JV, Newman A, et al. How many patients with heart failure are eligible for cardiac resynchronization? Insights from two prospective cohorts. *Eur Heart J*. 2006; 27 (3): 323–9.
32. Owen JS, Khatib S, Morin DP. Cardiac resynchronization therapy. *Ochsner J*. 2009; 9 (4): 248–56.
33. Shah RM, Patel D, Molnar J, et al. Cardiac-resynchronization therapy in patients with systolic heart failure and QRS interval ≤ 130 ms: insights from a meta-analysis. *Europace*. 2015; 17 (2): 267–73.
34. Kadish A, Nademanee K, Volosin K, et al. A randomized controlled trial evaluating the safety and efficacy of cardiac contractility modulation in advanced heart failure. *Am Heart J*. 2011; 161 (2): 329–37.
35. Abi-Samra F, Gutterman D. Cardiac contractility modulation: a novel approach for the treatment of heart failure. *Heart Fail Rev*. 2016; 21 (6): 645–60.
36. Liu X, Yang HJ, Ping HQ, et al. The safety and efficacy of cardiac contractility modulation in heart failure. *Herz*. 2017; 42 (8): 766–75.
37. Borggrefe MM, Lawo T, Butter C, et al. Randomized, double blind study of non-excitatory, cardiac contractility modulation electrical impulses for symptomatic heart failure. *Eur Heart J*. 2008; 29 (8): 1019–28.
38. Müller D, Remppis A, Schauerte P, et al. Clinical effects of long-term cardiac contractility modulation (CCM) in subjects with heart failure caused by left ventricular systolic dysfunction. *Clin Res Cardiol*. 2017; 106 (11): 893–904.

Črt Langel¹, Miha Mrak², Matjaž Bunc³

Perkutana vstavitev zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus: nova metoda zdravljenja odporne angine pectoris

Percutaneous Coronary Sinus Reducer Implantation: a New Refractory Angina Pectoris Treatment Method

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: koronarna bolezen, odporna angina pectoris, zmanjševalec pretoka skozi koronarni sinus, interventna kardiologija, ishemijska srčne mišice, subendokard

Odporna angina pectoris pomeni prisotnost prsne bolečine, kljub optimalnem zdravljenju z zdravili, ustrezni sekundarni preventivi in ob izčrpanih možnostih revaskularizacijskih posegov. Odporna angina pectoris je posledica ishemijske srčne mišice. Nastanek ishemijske je kompleksen in še ne dokončno raziskan patofiziološki proces, ki najprej in najbolj prizadene notranji, torej subendokardni del srčne mišice. Večino bolnikov s kronično koronarno boleznijo uspešno zdravimo z zdravili in/ali revaskularizacijo. Približno 10 % pa je bolnikov, pri katerih so uveljavljene metode zdravljenja neučinkovite ali kontraindicirane. Navkljub razmeroma nizki smrtnosti je kakovost življenja teh bolnikov slaba, zato je pomemben razvoj novih metod zdravljenja odporne angine pectoris. Perkutana vstavitev zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus je nova metoda interventne kardiologije, ki z zmanjšanjem prečnega preseka koronarnega sinusa poveča upor proti toku krvi. Posledično se zviša tlak v koronarnem sinusu, čemur sledijo prerazporeditev pretoka krvi v korist ishemičnih predelov srčne mišice, odprtje kolateralnih žil med ishemičnimi in neishemičnimi predeli srčne mišice, sčasoma pa tudi neovaskularizacija. Zmanjševalec pretoka skozi koronarni sinus je žilna opornica v obliki peščene ure, ki jo v približno šestih tednih po vstavitvi prekrije endotel in šele tedaj popolnoma prevzame svojo hemodinamsko vlogo. Vstavitev zmanjševalca pretoka se izvede s pristopom skozi desno notranjo jugularno veno, ki omogoča lažji vstop v koronarni sinus. Metoda je še v fazi kliničnega preizkušanja. Dosedanje raziskave so pokazale tako subjektivno izboljšanje simptomov angine pectoris kot objektivno izboljšanje zmogljivosti bolnika. Število operativnih in perioperativnih zapletov je majhno.

¹ Črt Langel, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; crt.langel@gmail.com

² Miha Mrak, dr. med., Klinični oddelek za kardiologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

³ Prof. dr. Matjaž Bunc, dr. med., Klinični oddelek za kardiologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; Inštitut za patološko fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 4, 1000 Ljubljana

ABSTRACT

KEY WORDS: coronary artery disease, refractory angina pectoris, coronary sinus reducer, interventional cardiology, myocardial ischemia, subendocardium

Refractory angina pectoris is defined as the persistence of angina symptoms despite optimal pharmacological therapy and secondary prevention measures, with revascularization options exhausted. Refractory angina pectoris is caused by myocardial ischemia. The occurrence of myocardial ischemia is a complex and not yet fully understood pathophysiological process that first and foremost affects the subendocardial region. The vast majority of patients suffering from chronic coronary artery disease are successfully treated with optimal pharmacological therapy and/or revascularization. However, in about 10% of the patients, classic angina pectoris treatment methods are either ineffective or contraindicated. Despite having a relatively low mortality rate, these patients tend to suffer from poor quality of life. Therefore, developing new refractory angina pectoris treatment methods is of considerable importance. Percutaneous coronary sinus reducer stent implantation is the latest promising method to tackle the challenges of refractory angina pectoris. By decreasing the coronary sinus lumen, it increases resistance, therefore elevating coronary sinus blood pressure. This, in turn, causes blood flow redistribution (preferentially to myocardial ischemic regions), increases collateral blood flow and, in the long term, induces neovascularization. Percutaneous coronary sinus reducer is an intricately engineered stainless steel mesh that is endothelialized in roughly six weeks after implantation. Only with the majority of endothelialization complete is it able to assume its intended hemodynamic function. In case of complications, it can be fully dilated, annulling its hemodynamic effect. Percutaneous coronary sinus reducer implantation is still in its clinical trial phase. The results thus far indicate both subjective improvement of angina symptoms and objective improvement of exercise time. Additionally, there have not been any device-related adverse effects reported.

UVOD

Naraščajoče število koronarnih revaskularizacijskih posegov, tako perkutanih kot kirurških, razvoj novih materialov in uvajanje novih zdravil, so v zadnjih desetletjih znatno izboljšali preživetje in kakovost življenja bolnikov s koronarno boleznijo (1). Kljub temu je koronarna bolezen v svetovnem merilu vodilni vzrok umrljivosti (2). Z izboljšanim preživetjem se je povečalo tudi število bolnikov s t. i. odporno angino pectoris (OAP) (3).

OAP je opredeljena kot kronična, vsaj tri mesece trajajoča angina pectoris (AP), ki jo povzroča reverzibilna ishemija srčne mišice

in je ni mogoče zdraviti s kombinacijo optimalne terapije z zdravili, ukrepi sekundarne preventive in perkutano (angl. *percutaneous coronary intervention*, PCI) ali kirurško (angl. *coronary artery bypass graft surgery*, CABG) revaskularizacijo (3). Revaskularizacija najpogosteje ni mogoča zaradi nepriemerne anatomije koronarnih arterij, pridruženih boleznih ali visoke starosti (4–6).

Bolnikom z OAP je namenjena nova metoda interventne kardiologije, ki težišče zdravljenja prestavlja z arterij na koronarni sinus, funkcijo žilnih opornic kot sredstev za širjenje žilne svetline pa dopolnjuje z nasprotno nalogo: zoževanjem.

PATOFIZIOLOGIJA ISHEMIJE SRČNE MIŠICE

Ishemija srčne mišice je posledica neskladja med dostavo kisika srčni mišici in potrebami srčne mišice po kisiku. Najpogostejši vzrok za takšno neskladje je obstruktivna koronarna bolezen, ki jo povzroči zožitev epikardne koronarne arterije (7). Zožitev je posledica aterosklerotičnega plaka, ki nastane tako, da dejavniki tveganja, kot so dislipidemija, arterijska hipertenzija hiperglikemija in zvišan indeks telesne mase, v endoteliju koronarnih žil aktivirajo vnetno kaskado. Posledično pride do kopičenja holesterola in penastih makrofagov ter migracije in razmnoževanja vezivnih celic (8, 9). Ishemija srčne mišice je lahko, sploh pri ženskah, tudi posledica mikrovaskularne bolezni z okvarjeno vazodilatacijo (7, 10). Do zmanjšanja oskrbe s kisikom pride tudi pri diastolični disfunkciji levega prekata zaradi zvišanega končnega diastoličnega tlaka (11). Po drugi strani pa ishemijo zaradi zvišanih potreb po kisiku srečamo pri hipertrofiji srčne mišice zaradi hipertrofične kardiomiopatije ali dolgotrajno povišane tlačne obremenitve (angl. *afterload*), npr. zaradi aortne stenoze ali neurejene arterijske hipertenzije (12).

Ishemija srčne mišice se širi od subendokardnega proti subepikardnemu delu (13). Vzrokov za takšen potek ishemije je več, najpomembnejši dejavniki pa so naslednji (14–22):

- Višji intramiokardni tlak v subendokardu. Tlak, ki ga ustvarjata mišičnina in kri znotraj srčne votline, je v subendokardu višji kot v subepikardu. Pri enakem znotrajžilnem tlaku je presek žil, ki ležijo bližje subendokardu, manjši, posledično je manjši tudi pretok krvi.
- Višja podajnost subendokardnih arteriol. Subendokardne arteriole imajo tanjšo steno in zato višjo podajnost od subepikardnih. Ob enakem zmanjšanju prekrvavitvenega tlaka v subendokardnih arteriolah pride do večjega zvišanja upora in posledično večjega znižanja pretoka kot v subepikardnih.

- Manjša vazodilatacija in vazodilatorna rezerva v subendokardu. Arteriole padcu prekrvavitvenega tlaka zaradi zožitve epikardne arterije nasprotujejo z vazodilatacijo. Arteriole subendokarda se razširijo manj kot arteriole subepikarda. To bi lahko razložili z nižjo pulzatilnostjo toka krvi v primerjavi s subepikardom. Posledica so manjše strižne sile in s tem manjše sproščanje vazodilatatornega dušikovega oksida (NO). Razmerje med pretokom krvi, doseženim z maksimalno farmakološko vazodilatacijo, in pretokom krvi v mirovanju se imenuje vazodilatatorna rezerva. V razmerah hipoperfuzije subendokardne arteriole prej dosežejo svojo vazodilatatorno rezervo kot subepikardne.
- Večje presnovne potrebe subendokarda. Presnovne potrebe subendokarda so večje od potreb subepikarda, zato subendokard ob enakem zmanjšanju prekrvavitvenega tlaka prej doseže prag za ishemijo kot subepikard. To tudi pomeni, da je vazodilatatorna rezerva subendokarda že v fizioloških razmerah deloma izčrpana.
- Večji delež retrogradnega toka krvi v subendokardu med sistolo. Prekrvavitev srčne mišice poteka predvsem med diastolo. Meritve *in vivo* na pasjem modelu kažejo, da se v subendokardu med sistolo pojavi znaten retrogradni tok krvi (celo 84 % anterogradnega), ki ga mora izpodriniti anterogradni tok naslednje diastole, kar zmanjšuje neto prekrvavitev. Delež sistoličnega retrogradnega toka krvi v subepikardu je manjši in znaša 25 % anterogradnega.
- Okvara simpatično posredovanega mehanizma za zvišanje perfuzije subendokarda ob naporu. Stimulacija adrenergičnih receptorjev β_2 , ki so v subendokardnih arteriolah, povzroči razširitev uporovnih žil in povečanje pretoka. Stimulacija adrenergičnih receptorjev α , ki so v subepikardnih uporovnih žilah, pa povzroči skrčenje subepikardnih arteriol in zmanjšanje pretoka. Napor oz. povečane potrebe srčne

mišice po kisiku prek zvišanja tonusa simpatičnega živčevja zvišajo prekrvavitve subendokardnega predela srčne mišice, deloma tudi na račun prekrvavitve subepikarda. Zožitev epikardne koronarne arterije lahko povzroči okvaro opisanega mehanizma.

Zgoraj opisane mehanizme lahko strnemo v ugotovitev, da zožitev epikardne koronarne arterije prek znižanja prekrvavitvenega tlaka in drugih mehanizmov povzroči preazporeditev toka krvi od subendokarda proti subepikardu, zato ishemija subendokard prizadene prej in močneje (16). Po drugi strani pa so ugotovili, da zvišanje poprej znižanega prekrvavitvenega tlaka, npr. z zmanjšanjem pretoka skozi koronarni sinus, povzroči pomembno povečanje pretoka krvi v subendokardu, medtem ko nima vpliva na tok krvi v subepikardu (23).

KLINIČNA SLIKA IN KLASIFIKACIJA

Ishemija srčne mišice se klinično najpogosteje izrazi kot AP, pri čemer med stopnjo ishemije in jakostjo bolečine ni neposredne povezave (24). Kljub temu je približno 25 % bolnikov s pomembno ishemijo srčne mišice asimptomatskih. Večina simptomatskih bolnikov pa doživi tudi več asimptomatskih epizod ishemije (25). Zaradi avtonomne

nevropatije so asimptomatski bolniki pogosto tisti z dolgoletno sladkorno boleznijo. Asimptomatski so tudi bolniki, ki zaradi pridruženih bolezni (npr. boleznj gibalnega aparata) kljub pomembni koronarni bolezni ne dosežejo praga za ishemijo (26).

Glede na hitrost, dinamiko in okoliščine nastanka bolečine ter odziv na zdravljenje AP v grobem delimo na akutno, kronično, postinfarktno in odporno (angl. *refractory angina pectoris*) (25). Glede na stopnjo bolečine ob naporu pa jo na podlagi lestvice CCS (Canadian Cardiovascular Society) razdelimo v štiri razrede (tabela 1) (27).

Obstajajo tudi podrobnejše klasifikacije prsne bolečine, ki pa presegaajo okvir tega članka (28, 29).

Poleg AP se lahko ishemija srčne mišice kaže tudi s simptomi in znaki srčnega popuščanja ter motnjami srčnega ritma (30).

KLASIČNE METODE ZDRAVLJENJA KRONIČNE ANGINE PEKTORIS

Bolnike s kronično AP zdravimo na dva načina: z zdravili in revaskularizacijskimi posegi.

Zdravljenje z zdravili

Zdravila delimo na tista, ki znižujejo umrljivost, in tista, ki lajšajo simptome. V prvo skupino spadajo acetilsalicilna kislina in

Tabela 1. Razredi prsne bolečine ob naporu, opredeljeni z lestvico CCS (Canadian Cardiovascular Society) (27).

Razred	Okoliščine nastanka prsne bolečine
I	Prsna bolečina ne omejuje vsakdanjih dejavnosti. Ne pojavi se med hojo ali vzpenjanjem po stopnicah. Pojavi se le pri intenzivnem ali hitrem ali dolgotrajnem naporu na delovnem mestu ali pri rekreaciji.
II	Prsna bolečina blago omejuje vsakdanje dejavnosti. Pojavi se pri hoji po ravnem, daljši od 200 m, pri vzponu po stopnicah za več kot eno nadstropje, pri hitri hoji ali hitrem vzpenjanju po stopnicah, pri hoji ali vzpenjanju po stopnicah po obroku, v hladnem ali vetrovnem okolju, med čustveno obremenitvijo, v prvih urah po prebujanju.
III	Prsna bolečina znatno omejuje vsakdanje dejavnosti. Pojavi se pri hoji po ravnem, krajši od 200 m, pri vzponu po stopnicah za manj kot eno nadstropje.
IV	Prsna bolečina povzroča nezmožnost opravljanja kakršnekoli telesne dejavnosti brez občutka nelagodja. Lahko je prisotna v mirovanju.

statini. Pogojno sem spadajo tudi zaviralci adrenergičnih receptorjev β , saj znižujejo umrljivost bolnikov z miokardnim infarktom (MI) in kroničnim srčnim popuščanjem. V drugo skupino uvrščamo antagoniste kalcijevih kanalčkov, ivabradin, nitrate, nikorandil, ranolazin, trimetazidin, zaviralce angiotenzinske konvertaze in sartane (31).

Omenjena zdravila imajo različne mehanizme delovanja. Acetilsalicilna kislina preprečuje agregacijo trombocitov in povzroča vazodilatacijo (32). Statini znižujejo serumsko koncentracijo lipoproteinov majhne gostote, imajo pa tudi druge kardioprotektivne učinke, npr. izboljšanje delovanja endotelija (33). Zaviralci adrenergičnih receptorjev β in kalcijevi antagonisti (verapamil in diltiazem) imajo negativne kromotropne in inotropne učinke. Ivabradin znižuje srčno frekvenco, a ga lahko uporabljamo le pri bolnikih v sinusnem ritmu. S kratko- in dolgodelujočimi nitraty v obliki pršila, tablet ali obliža dosežemo vazodilatacijo koronarnih arterij, zaradi venodilatacije pa se pomembno zmanjša predobremenitev srca. Vazodilatatorni učinek ima tudi nikorandil, ki pa pri nas ni registriran. Simptomatskemu bolniku lahko med zdravljenja dodamo ranolazin, ki zmanjša znotrajcelično koncentracijo kalcija in s tem zniža napetost v srčni steni. Primeren je tudi zaradi sočasnega antiaritmičnega delovanja. Popolnoma presnovni učinek ima trimetazidin, ki preusmeri presnovni proces iz oksidacije maščobnih kislin v energijsko učinkovitejšo glikolizo. Tlačno obremenitev srca zmanjšamo z zdravljenjem arterijske hipertenzije. Tu zaradi dodatnega kardioprotektivnega učinka najpogosteje posežemo po zdravilu iz skupine zaviralcev angiotenzinske konvertaze ali sartanu (5, 6, 34).

Izbor zdravila ali kombinacije zdravil upošteva pridružene bolezni, kontraindikacije, učinkovitost pri določenem bolniku in bolnikove želje (35).

Revaskularizacijski posegi

Revaskularizacijske posege delimo na PCI in CABG (36).

Pri bolnikih z akutnim koronarnim sindromom PCI v primerjavi s farmakološkim zdravljenjem zniža pojavnost ponovnega MI in smrti (37, 38). Presenetljivo pa je raziskava COURAGE (Clinical Outcomes Utilizing Revascularization and Aggressive Drug Evaluation) pokazala, da PCI v kombinaciji z optimalnim farmakološkim zdravljenjem in sekundarno preventivo pri bolnikih s kronično koronarno boleznijo ne zniža smrtnosti in pojavnosti MI bolj kot optimalno farmakološko zdravljenje ter sekundarna preventiva sama (39). Vendar je potrebno poudariti, da je približno 40 % bolnikov, vključenih v raziskavo COURAGE, pred začetkom zdravljenja le blago ishemijo srčne mišice (tj. ishemijo, ki obsega manj kot 10 % srčne mišice), zgolj okoli 33 % bolnikov pa zmerno (10–20 % srčne mišice) ali hudo ishemijo (več kot 20 % srčne mišice) (40, 41). Kasnejše raziskave so pokazale, da PCI v primerjavi s farmakološkim zdravljenjem izboljšuje preživetje bolnikov z zmerno in hudo ishemijo srčne mišice (42, 43). Pri kronični koronarni bolezni z blago ishemijo srčne mišice je zato metoda izbora zdravljenje z zdravili, ki ga spremlja ustrezna sekundarna preventiva. Pri zmerni in hudi ishemiji srčne mišice ter v primerih, ko bolniki z blago ishemijo kljub farmakološkem zdravljenju ostanejo simptomatski, pa posežemo po revaskularizacijskih metodah.

Med kirurškim in perkutanim pristopom zdravljenja koronarne bolezni se odločamo s pomočjo lestvice SYNTAX (Synergy Between Percutaneous Coronary Intervention with Taxus and Cardiac Surgery; Taxus označuje paklitaksel, protitumorsko učinkovino, s katero je prevlečena žilna opornica, ki s preprečevanjem endotelizacije ohranja prehodnost svetline opornice). Lestvica temelji na angiografski morfološki oceni pomembnosti žilnih lezij oz. kompleksnosti

koronarne bolezni (44). Še boljše oceno omogoča t. i. funkcionalna lestvica SYNTAX, ki upošteva zgolj tiste lezije, ki povzročajo objektivno izmerljivo ishemijo srčne mišice (45). CABG dajemo prednost pred PCI pri večžilni in difuzni koronarni bolezni, prizadetosti debela leve koronarne arterije, izrazitih kalcinacijah, sladkornih bolnikih, starostnikih in pri vseh, ki potrebujejo srčno operacijo zaradi pridružene bolezni, najpogosteje bolezni srčnih zaklopk (46).

Farmakološko zdravljenje, sekundarna preventiva in/ali revaskularizacija je uspešna pri približno 90 % simptomatskih bolnikov s kronično koronarno boleznijo, pri okoli 10 % obolenih pa so te metode neučinkovite ali kontraindicirane (1). Gre za bolnike s težko difuzno aterosklerozo, slabimi tarčnimi žilami za CABG, hudim levostranskim srčnim popuščanjem, periferno arterijsko boleznijo, kronično ledvično boleznijo ali gre za zelo stare bolnike (5). Pri teh bolnikih govorimo o OAP. Umrljivost bolnikov z OAP je primerljiva z umrljivostjo ostalih bolnikov s koronarno boleznijo; enoletna umrljivost je 3,9 %, v desetih letih pa jih umre približno ena tretjina (47). Ker je kakovost življenja teh bolnikov slaba, je zelo pomemben razvoj novih metod zdravljenja (5).

ZDRAVLJENJE ODPORNE ANGINE PEKTORIS Z ZMANJŠEVALCEM PRETOKA SKOZI KORONARNI SINUS

Koronarni sinus (lat. *sinus coronarius*) je kratka, široka vena, v katero se iz večjih srčnih ven izliva približno 60 % venske krvi srčne mišice. Poteka v koronarnem žlebu (lat. *sulcus coronarius*) med levim preddvorom in levim prekatom. Z ustjem (lat. *ostium sinus coronarii*) se odpira v desni preddvor, in sicer njegov posteromedialni del med desnim preddvorno-prekatnim ustjem (lat. *ostium atrioventriculare*) in spodnjo votlo veno (lat. *vena cava inferior*). Ustje pri 70–80 % populacije zastira zaklopka koronarnega sinusa (lat. *valvula sinus coro-*

narii (*Thebesii*)), ki jo oblikuje duplikatura endokarda (48, 49).

Metoda zdravljenja z zmanjševalcem pretoka skozi koronarni sinus temelji na zmanjšanju žilne svetline koronarnega sinusa, kar povzroči povečanje upora, zmanjšanje pretoka in zvišanje tlaka v koronarnem sinusu, temu pa retrogradno – prek venul in mikrocirkulacije – sledi zvišanje tlaka v koronarnih arterijah (1). To ima za posledico naslednje spremembe, ki vodijo do zmanjšanja ishemije (50–54):

- Dilatacija subendokardnih žil s posledično prerazporeditvijo toka krvi v korist subendokarda.
- Zaradi nastalih tlačnih razlik odprtje že obstoječih kolateralnih žil med normalno prekrvavljanimi in ishemičnimi predeli srčne mišice.
- Nastanek novih kolateralnih žil v procesu neoangiogeneze. Na pasjem modelu do tega pride v 8–12 tednih po zvišanju tlaka v koronarnem sinusu.

Ideja o zoževanju koronarnega sinusa za blažjenje AP ni nova, saj je v praksi prvič živela v 50. letih prejšnjega stoletja, ko sta Beck in Leighninger opisala metodo, kasneje imenovano Beck I (55). Gre za kirurško zoženje koronarnega sinusa za 60–70 %, pri čemer pooperativni premer svetline sinusa znaša 3 mm. Klinični izid operacije po Becku I so odlikovali izboljšanje prsne bolečine, izboljšanje funkcijske sposobnosti bolnikov in zmanjšanje petletne umrljivosti (56). Slabosti metode so bile krvavitve, edem srčne mišice in poškodba ter brazgotinjenje koronarnih ven. Ob uvedbi CABG je metoda zamrla, z razmahom interventne kardiologije in vse višjo pojavnostjo OAP pa doživlja preporod v obliki perkutane vstavitve zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus (57).

Perkutana vstavitev zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus

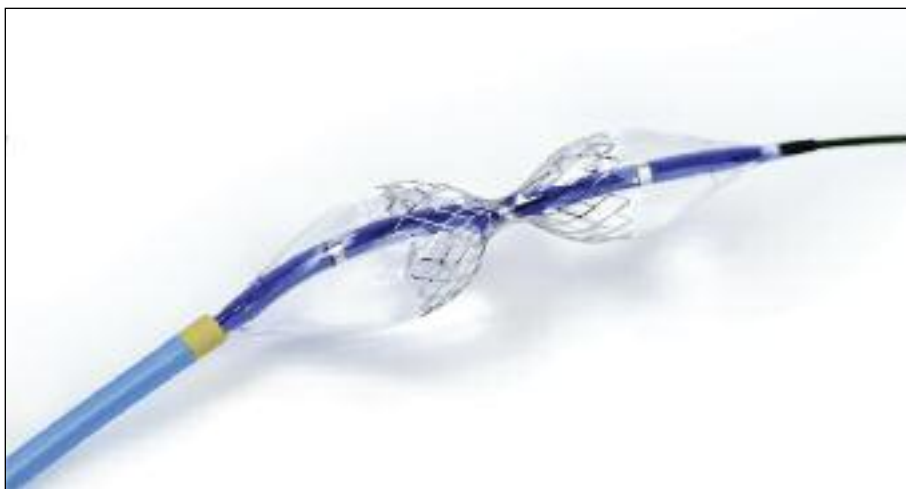
Zmanjševalec pretoka skozi koronarni sinus je naprava iz nerjavečega jekla, ki ima v raz-

prtem položaju obliko peščene ure. Skrajna konca sta lijakasto razširljiva – proksimalni do preseka 13 mm, distalni pa do preseka 7 mm – in sta namenjena učvrstitvi. Srednji del ima presek 3 mm in je namenjen zmanjšanju pretoka krvi. Skrajna konca se s pomočjo balona razširita tako, da ustrezata anatomiji koronarnega sinusa posameznega bolnika, presek srednjega dela pa je načeloma stalen. Srednji del je v primeru zapletov sicer z napihnitvijo balona mogoče razširiti do preseka, podobnega preseku skrajnih koncev, in s tem izničiti hemodinamski učinek že učvrščenega zmanjševalca pretoka (58).

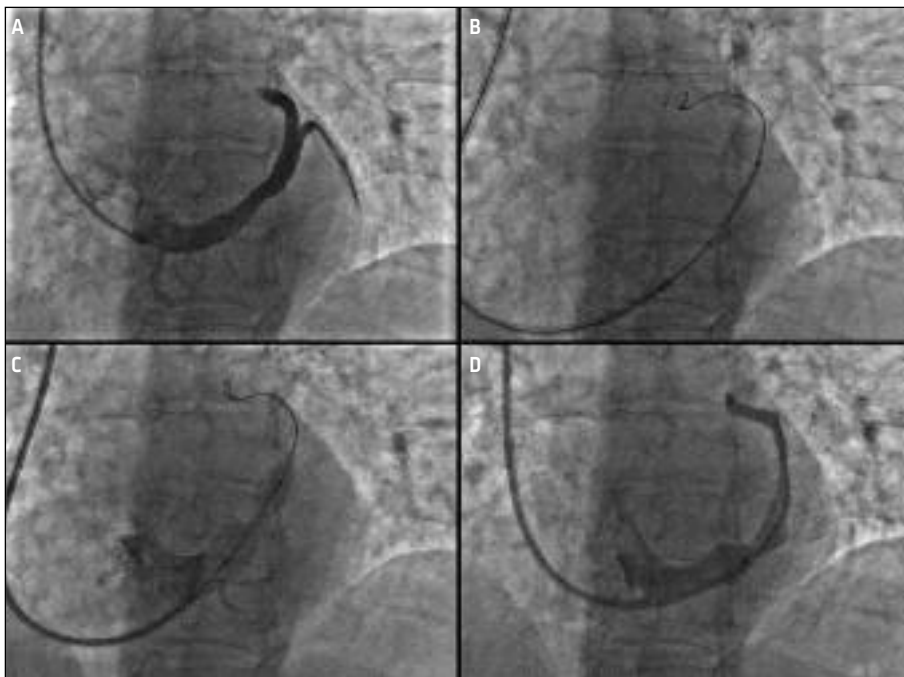
Bolnik teden dni pred posegom prejema acetilsalicilno kislino v odmerku 100 mg/dan in klopidogrel 75 mg/dan. Na začetku posega bolnik prejme lokalno anestezijo vstopnega mesta. Skozi desno notranjo jugularno veno (lat. *vena jugularis interna dextra*) vstavimo vodilo. Tak pristop namesto običajnega femoralnega pristopa se uporablja zaradi lažje kanulacije koronarnega sinusa. Preko jugularne vene in zgornje votle vene vpeljemo kateter in izmerimo tlak v desnem preddvoru: če presega 15 mmHg, postopek prekinemo, saj pri visokem tlaku v desnem preddvoru ni pričakovati ugodnega učinka

zvišanja tlaka v koronarnem sinusu (58). Bolnik prejme bolus nefrakcioniranega heparina v odmerku 70 E/kg telesne mase. S katetrom vstopimo v ustje koronarnega sinusa ter opravimo venografijo, pri tem izmerimo velikost koronarnega sinusa in določimo položaje stranskih vej. Glede na anatomijo koronarnega sinusa izberemo primerno mesto za vstavitev zmanjševalca pretoka (slika 1, slika 2). Najprimernejše mesto je 1,3–3 cm distalno od ustja koronarnega sinusa, pri čemer mora izbrani odsek koronarnega sinusa zaradi omejitev razpona zmanjševalca pretoka v premeru meriti 9,5–13 mm, zaradi morebitnih neželenih hemodinamskih posledic pa ne sme vsebovati vtočišč večjih stranskih vej (22). Skozi kateter nato vpeljemo žico in preko nje vodilni kateter z zmanjševalcem pretoka. Proksimalni in distalni skrajni konec zmanjševalca razpremo s pomočjo posebnega balona, ki ima v napihnjem stanju obliko zašiljenega keglja. Balon se polni s polnitvijo na 4–6 atm v trajanju najmanj 60 sekund.

Pomembno je, da največji premer skrajnih koncev zmanjševalca za 10–20 % presega premer odseka koronarnega sinusa, izbranega za vstavitev. To zagotavlja varno mehansko zagozdenje zmanjševalca, obenem



Slika 1. Kateter, napihljiv balon in zmanjševalec pretoka skozi koronarni sinus.



Slika 2. RTG diaskopija postopka vstavitve zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus. A - prikaz koronarnega sinusa s kontrastnim sredstvom (venografija). B - vstavitve vodilnega katetra z balonom in zmanjševalcem pretoka v nerazširjenem stanju. C - napihnjenje balona s posledično razširitvijo obeh skrajnih koncev zmanjševalca pretoka in zagozdenjem v steno koronarnega sinusa. Proksimalno je viden kontrast, katerega nezatekanje v distalno smer pomeni, da se stena balona - s tem pa tudi nanjo nasajeni zmanjševalec pretoka - dobro prilega steni koronarnega sinusa. Za varno zagozdenje in uspešno spodbudo endotelizacije mora največji premer skrajnih koncev zmanjševalca za 10–20 % presegati premer koronarnega sinusa. D - prikaz koronarnega sinusa s kontrastnim sredstvom po vstavitvi zmanjševalca pretoka (venografija).

pa s poškodbo žilne stene spodbuja sproščanje vnetnih posrednikov, ki pospešujejo endotelizacijo mrežaste strukture opornice (1, 58). Endotelizacija je nujni pogoj za hemodinamsko učinkovanje opornice, saj jekleni pletež sam po sebi ni neprepusten za kri, zato ne zagotavlja povečanja upora, zadostnega za retrogradni dvig tlaka (57). Zaradi tega se klinični učinek vstavljenih opornic ne pokaže takoj, temveč šele po približno šestih tednih (1). Za dinamiko endotelizacije opornice je pomembno, da se srednji, uporovni del ne dotika stene koronarnega sinusa in tako za razliko od distalnih koncev ne poškoduje endotelija, s tem pa tudi ne sproža signalnih kaskad za endotelizacijo. Posledično je spodbuda za rast

endotela v srednjem delu opornice zelo majhna, kar svetlino zmanjševalca pretoka varuje pred zaprtjem (57). Na koncu postopka vstavitve se ponovno opravi venografijo, s katero se izključi perforacijo, disekcijo in trombozo koronarnega sinusa. Bolnik bolnišnico zapusti v enem do dveh dneh (1). Še šest mesecev po posegu prejema dvotirno antiagregacijsko zaščito z acetylsalicilno kislino in s klopidogrelom nato pa je potrebno doživljenjsko jemanje acetylsalicilne kisline.

Možni zapleti postopka vstavitve opornice za zmanjševanje pretoka v koronarnem sinusu so: disekcija koronarnega sinusa zaradi premikov katetra ali žice (še posebej pri kanulaciji koronarnega sinusa), migra-

cija opornice z mesta vstavitve, tromboza koronarnega sinusa, MI zaradi poškodbe bližnje cirkumfleksne koronarne arterije ter klasični zapleti pri kanulaciji jugularne vene (58).

Dosedanje klinične raziskave vstavitve zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus

Prva raziskava vstavitve zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus je bila opravljena leta 2007 na vzorcu 15 bolnikov, ki so jih spremljali najprej šest mesecev in nato še tri leta po posegu (1). Ker je šlo za predklinično raziskavo faze I, je bil njen primarni cilj ugotovitev varnosti. V opazovanem obdobju noben od bolnikov ni doživel t. i. neugodnega srčnega dogodka, tj. smrti, MI, perforacije koronarnega sinusa, okluzije koronarnega sinusa ali drugih dogodkov, ki bi narekovali urgentno razširitev zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus. Poleg varnosti so preverjali tudi učinkovitost zdravljenja. Ugotovili so izboljšanje na lestvici CCS z začetne povprečne vrednosti 3,07 na končno 1,64 ($p < 0,0001$).

Podobne rezultate glede varnosti in subjektivno ocenjene učinkovitosti zmanjševalca pretoka so dale tudi nekatere druge raziskave na majhnih vzorcih bolnikov, opravljene v sklopu enega ali nekaj medicinskih centrov (59–61). Prednost raziskav, ki so sledile prvi, je pretežno poenotenje meril za oceno objektivne zmogljivosti bolnika ter objektivnega zmanjšanja obsega in/ali stopnje ishemiije. Tako je raziskava Königsteina in sodelavcev na vzorcu 21 bolnikov ugotovila, da vstavitev zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus podaljša povprečno trajanje obremenitvenega testiranja za 120 sekund ($p = 0,05$) in izboljša indeks gibanja srčne stene, merjen med obremenitvijo (angl. *wall-motion index*), za 26,3% ($p = 0,046$).

Največja težava zgoraj omenjenih raziskav je subjektivnost ocene izboljšanja simptomov pri lestvici CCS, saj se učinek

placeba pojavlja pri številnih raziskavah OAP (1). Težava je tudi majhno število bolnikov. Učinku placeba pa so se poskušali izogniti v obsežnejši raziskavi COSIRA (Coronary Sinus Reducer for Treatment of Refractory Angina). Gre za randomizirano, dvojno slepo raziskavo, ki je zajemala bolnike z OAP, ki na lestvici CCS dosega stopnjo III ali IV. Pri 52 bolnikih opazovane skupine so vstavili zmanjševalec pretoka, 52 bolnikom kontrolne skupine pa so izvedli lažni poseg, natančno posnemajoč resničnega, a brez dejanske vstavitve zmanjševalca pretoka. Vstavitev je bila uspešna pri 50 od 52 bolnikov (96%), razlog neuspeha pri preostalih dveh bolnikih je bila za kateter neprehodna anatomija zaklopke koronarnega sinusa. Z raziskavo so ugotovili, da je po šestih mesecih od posega o izboljšanju za en ali več razredov na lestvici CCS poročalo 71% bolnikov opazovane in 42% kontrolne skupine ($p = 0,003$). O izboljšanju za dva ali več razredov pa 35% opazovane in 15% kontrolne skupine ($p = 0,02$). V obdobju šestih mesecev po posegu je v opazovani skupini en bolnik doživel MI. V kontrolni skupini so MI doživeli trije bolniki, eden pa je umrl zaradi večorganske odpovedi. Nezanemarljiv odstotek izboljšanja na lestvici CCS pri kontrolni skupini kaže na učinek placeba, razmeroma velika razlika med izboljšanjem stanja v opazovani in kontrolni skupini pa na dejstvo, da vstavitev opornice tudi objektivno učinkovito izboljša simptome AP (59).

Trenutno v Evropi poteka opazovalna raziskava, ki bo zajela do 400 bolnikov in namerava proučevati tudi njihovo petletno preživetje. V ZDA in Kanadi pa se pripravlja randomizirana, dvojno slepa raziskava COSIRA-II (22).

ZAKLJUČEK

Perkutana vstavitev zmanjševalca pretoka skozi koronarni sinus predstavlja eno izmed najnovejših tehnik interventne kardiologije. Epidemiološko neugodni trendi naraščanja

incidence OAP ter hudo okrnjena kakovost življenja, ki pesti bolnike s to boleznijo, kažejo na pomen iskanja dodatnih, uspešnejših metod zdravljenja. Upošteva var-

nost in objektivno dokazano učinkovitost nove perkutane metode, se zdi njena prihodnost svetla.

LITERATURA

- Banai S, Muvhar SB, Parikh KH, et al. Coronary sinus reducer stent for the treatment of chronic refractory angina pectoris. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49 (17): 1783-9.
- Jolicoeur EM, Cartier R, Henry TD, et al. Patients with coronary artery disease unsuitable for revascularization: definition, general principles and a classification. *Can J Cardiol.* 2012; 28 (Suppl 2): S50-S9.
- Mannheimer C, Camici P, Chester MR, et al. The problem of chronic refractory angina. *Eur Heart J.* 2002; 23 (5): 355-70.
- Yang EH, Barsness GW, Gersh BJ, et al. Current and future treatment strategies for refractory angina. *Mayo Clin Proc.* 2004; 79 (10): 1284-92.
- Henry TD, Satran D, Jolicoeur EM. Treatment of refractory angina in patients not suitable for revascularization. *Nat Rev Cardiol.* 2014; 11 (2): 78-95.
- Kim MC, Kini A, Sharma SK. Refractory angina pectoris: mechanism and therapeutic options. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39 (6): 923-34.
- Jacobshagen C, Maier LS. Pathophysiologie der chronischen Myokardischämie. *Herz.* 2013; 38 (4): 329-33.
- Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation.* 2005; 111 (25): 3481-8.
- DeJongste MJL, Tio RA, Foreman RD. Chronic therapeutically refractory angina pectoris. *Heart.* 2004; 90 (2): 225-30.
- Zuchi C, Tritto I, Ambrosio G. Angina pectoris in women: focus on microvascular disease. *Int J Cardiol.* 2013; 163 (2): 132-40.
- Khattari HN, Raphael MJ, Sharma B, et al. Left ventricular function in ischaemic heart disease: a review. *Postgrad Med J.* 1987; 54 (627): 16-25.
- Cokkinos DV, Krajcer Z, Leachman RD. Hypertrophic cardiomyopathy and associated coronary artery disease. *Tex Heart Inst J.* 1985; 12 (2): 147-51.
- Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, et al. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs. duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation.* 1977; 65 (5): 786-94.
- Stein PD, Sabbah HN, Marzilli M. Intramyocardial pressure and coronary extravascular resistance. *J Biomech Eng.* 1985; 107 (1): 46-50.
- Bunc M, Žižek B. Arterijska hipertenzija in koronarna bolezen. In: Matjaž Bunc, Iztok Gradecki, eds. 8. posvet o kronični bolezni srca z mednarodno udeležbo; 2013 Apr 20. Novo mesto, Slovenija: Društvo za izobraževanje in raziskovanje v medicini; 2013. p. 32-6.
- Algranati D, Kassab GS, Lanir Y. Why is subendocardium more vulnerable to ischemia? A new paradigm. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011; 300 (3): H1090-H1100.
- Merkus D, Vergoesen I, Hiramatsu O. Stenosis differentially affects subendocardial and subepicardial arterioles in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001; 280 (4): H1674-H82.
- Hoffman JI. Transmural myocardial perfusion. *Prog Cardiovasc Dis.* 1987; 29 (6): 429-64.
- Heusch G. Heart rate in the pathophysiology of coronary blood flow and myocardial ischaemia: benefit from selective bradycardic agents. *Br J Pharmacol.* 2008; 153 (8): 1589-601.
- Toyota E, Ogasawara Y, Hiramatsu O, et al. Dynamics of flow velocities in endocardial and epicardial coronary arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 288 (4): H1598-H603.

21. Kaufmann PA, Camici PG. Myocardial blood flow by PET: technical aspects and clinical applications. *J Nucl Med.* 2005; 46 (1): 75-88.
22. Königstein M, Giannini F, Banai S. The reducer device in patients with angina pectoris: mechanisms, indications, and perspectives. *Eur Heart J.* 2017; 39 (11): 925-33.
23. Akira I, Hasebe N, Matsuhashi H, et al. Coronary sinus occlusion enhances coronary collateral flow and reduces subendocardial ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280 (3): H1361-H7.
24. Klein J, Chao S, Berman D, et al. Is 'silent' myocardial ischemia really as severe as symptomatic ischemia? The analytical effect of patient selection biases. *Circulation.* 1994; 89: 1958-66.
25. Conti CR. Re-thinking angina. *Clin Cardiol.* 2007; 30 (2 Suppl 1): 11-13.
26. Cohn PF, Fox KM. Silent myocardial ischemia. *Circulation.* 2003; 108 (10): 1263-77.
27. Campeau L. Grading of angina pectoris. *Circulation.* 1976; 54 (3): 522-3.
28. Kones R. Recent advances in the management of chronic stable angina I: approach to the patient, diagnosis, pathophysiology, risk stratification, and gender disparities. *Vasc Health Risk Manag.* 2010; 6: 635-56.
29. Dagenais GR, Armstrong PW, Thérioux P, et al. Revisiting the Canadian Cardiovascular Society grading of stable angina pectoris after a quarter of a century of use. *Can J Cardiol.* 2002; 18 (9): 941-4.
30. Nesto RW, Kowalchuk GJ. The ischemic cascade: temporal sequence of hemodynamic, electrocardiographic and symptomatic expressions of ischemia. *Am J Cardiol.* 1987; 59 (7): 23C-30C.
31. Grise MA, Verma A. Treatment of refractory angina. *Ochsner J.* 2009; 9 (4): 220-6.
32. Mehta P. Aspirin in the prophylaxis of coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol.* 2002; 17 (5): 552-8.
33. Lim SY. Role of statins in coronary artery disease. *Chonnam Med J.* 2013; 49 (1): 1-6.
34. Strauss MH, Hall AS. Angiotensin receptor blockers do not reduce risk of myocardial infarction, cardiovascular death, or total mortality: further evidence for the ARB-MI paradox. *Circulation.* 2017; 135 (22): 2088-90.
35. Camm AJ, Manolis A, Ambrosio G, et al. Unresolved issues in the management of chronic stable angina. *Int J Cardiol.* 2015; 201: 200-7.
36. Sipahi I, Akay MH, Dagdelen S, et al. Coronary artery bypass grafting vs percutaneous coronary intervention on long-term mortality and morbidity in multivessel disease: meta-analysis of randomized clinical trials of the arterial grafting and stenting era. *JAMA Intern Med.* 2014; 174 (2): 223-30.
37. Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet.* 2003; 361 (9351): 13-20.
38. Mehta SR, Cannon CP, Fox KA, et al. Routine vs selective invasive strategies in patients with acute coronary syndromes: a collaborative meta-analysis of randomized trials. *JAMA.* 2005; 293 (23): 2908-17.
39. Boden WE, O'Rourke RA, Teo KK, et al. Optimal medical therapy with or without PCI for stable coronary disease. *N Engl J Med.* 2007; 356 (15): 1503-16.
40. Shaw LJ, Berman DS, Maron J, et al. Optimal medical therapy with or without percutaneous coronary intervention to reduce ischemic burden: results from the Clinical Outcomes Utilizing Revascularization and Aggressive Drug Evaluation (COURAGE) trial nuclear substudy. *Circulation.* 2008; 117 (10): 1283-91.
41. Iwasaki K. Myocardial ischemia is a key factor in the management of stable coronary artery disease. *World J Cardiol.* 2014; 6 (4): 130-9.
42. Hachamovitch R, Hayes SW, Friedman JD, et al. Comparison of the short-term survival benefit associated with revascularization compared with medical therapy in patients with no prior coronary artery disease undergoing stress myocardial perfusion single photon emission computed tomography. *Circulation.* 2003; 107 (23): 2900-7.
43. Moroi M, Yamashina A, Tsukamoto K, et al. Coronary revascularization does not decrease cardiac events in patients with stable ischemic heart disease but might do in those who showed moderate to severe ischemia. *Int J Cardiol.* 2012; 158 (2): 246-52.
44. Sianos G, Morel MA, Kappetein AP, et al. The SYNTAX score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. *EuroIntervention.* 2005; 1 (2): 219-27.
45. Nam CW, Mangiacapra F, Entjes R, et al. Functional SYNTAX score for risk assessment in multivessel coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2011; 58 (12): 1211-8.
46. Wijns W, Kolh P, Danchin N, et al. Guidelines on myocardial revascularization. The task force on myocardial revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J.* 2010; 31 (20): 2501-55.
47. Henry TD, Satran D, Hodges JS, et al. Long-term survival in patients with refractory angina. *Eur Heart J.* 2013; 34 (34): 2683-8.

48. Kobe V, Dekleva A, Lenart IF, et al. Anatomija: skripta za študente medicine. Obtočila, žleze z notranjim izločanjem. Ljubljana: Medicinska fakulteta v Ljubljani; 2009. p. 43.
49. Singh JP, Houser S, Heist EK, et al. The coronary venous anatomy: a segmental approach to aid cardiac resynchronization therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2005; 46 (1): 68–74.
50. Ido A, Hasebe N, Matsuhashi H, et al. Coronary sinus occlusion enhances coronary collateral flow and reduces subendocardial ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001; 280: H1361–H67.
51. Sato M, Saito T, Mitsugi M, et al. Effects of cardiac contraction and coronary sinus pressure elevation on collateral flow. *Am J Physiol.* 1996; 271 (4 Pt 2): H1433–H40.
52. Rouleau JR, White M. Effects of coronary sinus pressure elevation on coronary blood flow distribution in dogs with normal preload. *Can J Physiol Pharmacol.* 1985; 63 (7): 787–97.
53. Mohl W, Glogar H, Mayr H, et al. Reduction of infarct size induced by pressure-controlled intermittent coronary sinus occlusion. *Am J Cardiol.* 1984; 53: 923–8.
54. Mohl W, Mina S, Milansinovic D, et al. Coronary sinus reducer stent. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008; 136 (5): 1390.
55. Beck CS, Leighninger DS. Scientific basis for the surgical treatment of coronary artery disease. *J Am Med Assoc.* 1955; 159 (13): 1264–71.
56. Matsuhashi H, Hasebe N, Kawamura Y. The effect of intermittent coronary sinus occlusion on coronary sinus pressure dynamics and coronary arterial flow. *Japanese Circulation Journal.* 1992; 56 (3): 272–85.
57. Königstein M, Verheye S, Jolicoeur EM, et al. Narrowing of the coronary sinus: a device-based therapy for persistent angina pectoris. *Cardiol Rev.* 2016; 24 (5): 238–43.
58. Giannini F, Aurelio A, Jabbour RJ, et al. The coronary sinus reducer: clinical evidence and technical aspects. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2017; 15 (1): 47–58.
59. Verheye S, Jolicœur M, Behan MW, et al. Efficacy of a device to narrow the coronary sinus in refractory angina. *N Engl J Med.* 2015; 372 (6): 519–27.
60. Abawi M, Nijhoff F, Stella PR, et al. Safety and efficacy of a device to narrow the coronary sinus for the treatment of refractory angina: a single-centre real-world experience. *Neth Heart J.* 2016; 24 (9): 544–51.
61. Königstein M, Meyten N, Verheye S, et al. Transcatheter treatment for refractory angina with the coronary sinus reducer. *EuroIntervention.* 2014; 9 (10): 1158–64.

Vid Leban¹, Miran Brvar², Igor Križaj³, Adrijana Leonardi⁴, Katarina Černe⁵

Strupene kače v Sloveniji – sestava in delovanje njihovega strupa

Venomous Snakes in Slovenia – Composition and Action of Their Venoms

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: kačji ugriz, kačji strup, *Viperidae* spp., protiserum

V Sloveniji živijo tri avtohtone vrste strupenih kač iz družine gadov: navadni gad (lat. *Vipera berus*), modras (lat. *Vipera ammodytes*) in laški gad (lat. *Vipera aspis*). Njihov strup je kompleksna zmes številnih beljakovin z zelo zapletenim in še ne docela pojasnenim delovanjem. V osnovi so strupi vseh treh kač podobno sestavljeni. Izzovejo lahko lokalne (oteklina, podplutbe, bolečina), pa tudi sistemske znake zastrupitve (bolečine v trebuhu, bruhanje, driska, padec krvnega tlaka, motnje hemostaze in nevrološke izpade), ki se lahko v izjemnih primerih končajo tudi s smrtjo. Najbolj podrobno so raziskane komponente strupa z nevrotoksičnim delovanjem (sekretorne fosfolipaze A2) in komponente, ki vplivajo na sistem hemostaze (sekretorne fosfolipaze A2, metaloproteinaze, serinske proteaze, L-aminokislinske oksidaze, disintegrini in beljakovine, podobne lektinom tipa C). Poznavanje sestave strupov in delovanja njihovih komponent ima pomembno vlogo pri izdelavi učinkovitih protiserumov in snovanju novih farmakoloških učinkovin.

ABSTRACT

KEY WORDS: snake bite, snake venom, *Viperidae* spp., antivenom

There are three indigenous species of venomous snakes of the *Viperidae* family in Slovenia: common adder (lat. *Vipera berus*), nose-horned viper (lat. *Vipera ammodytes*) and aspic viper (lat. *Vipera aspis*). Their venoms are complex mixtures of proteins with different and not yet fully understood functions. Basically, all three vipers have similar venom compositions. Snake venom can elicit local (edema, suffusions, pain) and systemic effects of envenomation (abdominal pain, vomiting, diarrhea, hypotension, bleeding disorders, and neurotoxic effects), which can be fatal in severe cases. The most thoroughly

¹ Vid Leban, dr. med., Center za klinično toksikologijo in farmakologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; vidleban@gmail.com

² Doc. dr. Miran Brvar, dr. med., Center za klinično toksikologijo in farmakologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; Center za klinično fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

³ Prof. dr. Igor Križaj, univ. dipl. kem., Odsek za molekularne in biomedicinske znanosti, Inštitut Jožef Stefan, Jamova cesta 39, 1000 Ljubljana

⁴ Doc. dr. Adrijana Leonardi, univ. dipl. kem., Odsek za molekularne in biomedicinske znanosti, Inštitut Jožef Stefan, Jamova cesta 39, 1000 Ljubljana

⁵ Doc. dr. Katarina Černe, univ. dipl. biol., Inštitut za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana

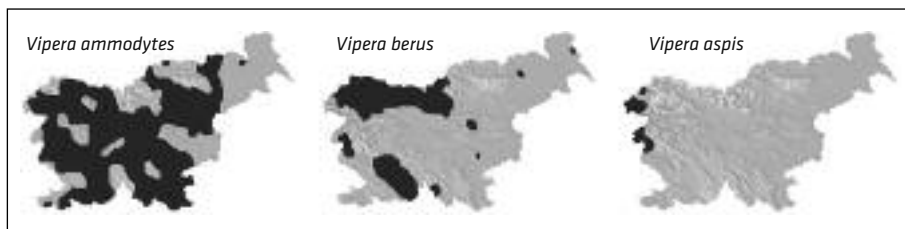
studied are the neurotoxic (secreted phospholipase A2) and haemostatically-active venom components (secreted phospholipases A2, metalloproteinases, serine proteases, L-amino acid oxidases, disintegrins and C-type lectin-like proteins). Knowing venom composition and understanding functional properties of venom components are important prerequisites for the production of effective antisera and the development of innovative pharmacological agents.

UVOD

V Evropi živi 13 vrst strupenih kač. V družini gožev (*Colubridae* spp.) so šibko strupene vrste črnostrel ali mačjeoka kača (*Telioscopus fallax*) in dve vrsti južnoevropski zrv (*Malpolon monspessulanus*, *Malpolon insignitus*). Ugrizi so redki, pa še ti po večini niso nevarni, saj imajo te kače strupnike nameščene v zadnjem delu ustne votline in do zastrupitve pride le ob neprimernem rokovanju z osebki – če potisnemo prst globoko v njihova usta (1–3). Človeku nevarnejše evropske strupene kače spadajo v družino gadov (*Viperidae* spp.), ki imajo različno velika območja poselitve: navadni gad oz. *Vipera berus* (razširjen po skoraj celi Evropi), laški gad oz. *Vipera aspis* (južna in zahodna Evropa, predvsem Francija in Italija), modras oz. *Vipera ammodytes* (severo-vzhodna Italija, Balkan), *Vipera latastei* (Iberski polotok), *Vipera seoanei* (severni del Iberskega polotoka), *Vipera ursinii* (del Francije, Italije in Balkanskega polotoka), *Vipera renardi* (vzhodna Ukrajina, južna Rusija, severna obala Črnega morja), *Vipera graeca* (Grčija, Albanija) in *Macrovipera lebetina* ter *Montivipera xanthina* (Grčija, Turčija) (2, 4).

V Sloveniji lahko na črnostrela in južnoevropsko zrvo naletimo v priobalnem pasu južne Primorske (1). Navadni gad je pri nas zastopan z dvema podvrstama (*Vipera berus berus* in *Vipera berus bosniensis*), modras (*Vipera ammodytes ammodytes*) in laški gad (*Vipera aspis francisciredi*) pa vsak le z eno podvrsto (1, 5). Modras je splošno razširjen po večjem delu države, navadni gad živi v gorskem svetu Julijskih in Kamniško-Savinjskih Alp, Karavank, Trnovskega gozda, Javornikov in Snežnika, v nižinah pa je redek in vezan na vlažen življenjski prostor. Laški gad je še bistveno redkejši, saj ga najdemo zgolj v skrajnem zahodnem delu Slovenije (Breginjski kot, Kobariški Stol, Korada, Sabotin, Goriško, Plužne pri Bovcu). Razširjenost omenjenih kač prikazujemo na sliki 1 (1, 6–8).

Razširjenost in številčnost posamezne vrste sta glavna dejavnika, ki vplivata na pogostost ugrizov kač v Sloveniji. Medtem ko na svetu po nekaterih ocenah kače letno ugriznejo približno 5.000.000 ljudi (40.000–96.000 jih umre), so kačji ugrizi v Evropi bistveno redkejši. Na območju Evrope, evropskega dela Rusije in Turčije je v ob-



Slika 1. Razširjenost modrasa (*Vipera ammodytes*), navadnega gada (*Vipera berus*) in laškega gada (*Vipera aspis*) v Sloveniji (8).

dobju 1970–2010 v povprečju približno 8.000 ugrizov letno, med njimi 1.000 primerov s sistemskimi znaki zastrupitve in štirje smrtni primeri (4, 9). V Sloveniji je bilo po podatkih Registra posvetov Centra za klinično toksikologijo in farmakologijo v letih 1999–2008 zabeleženih 39 ugrizov kač, med njimi deset ugrizov gada, sedem ugrizov modrasa, štirje ugrizi nestrupenih kač in 18 ugrizov neprepoznanih vrst kač (10). Ugrizi laškega gada so pri nas redkost, pomemben delež pa predstavljajo med kačjimi ugrizi v Franciji, Italiji in Švici (11, 12). Večina ugrizov pri nas se je pripetila v zahodnem delu Slovenije (79 %) (10).

TOKSIKOKINETIKA IN KLINIČNA SIMPTOMATIKA OB UGRIZU KAČE

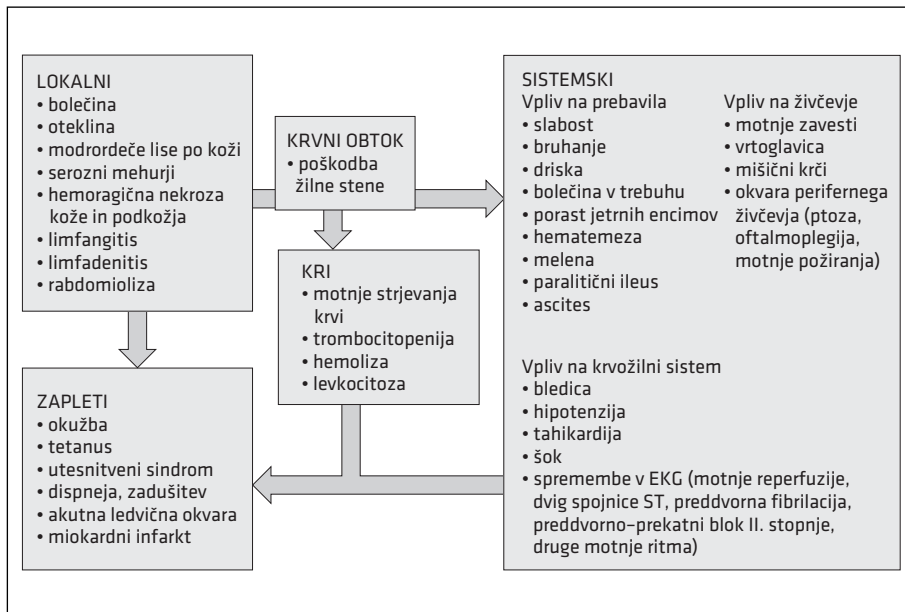
Kače človeka običajno ugriznejo v okončine. Strup izbrizgajo pod pritiskom, saj ugriz traja le nekaj desetink sekunde. Na mestu ugriza največkrat najdemo dve majhni, približno 5 mm oddaljeni ranici, razdalja pa se z večanjem otekline lahko poveča na več kot 1 cm. Redkeje je na mestu ugriza prisotna le ena ali več ranic, včasih pa samo praska. Strup je viskozen kot jajčni beljak. Običajna količina izločenega strupa pri ugrizu naših strupenih kač je približno 15–20 mg suhe snovi, ki bi jo dobili, če bi strup posušili. Večina strupa ostane na mestu ugriza v koži in podkožju, od koder se širi v limfni sistem in krvne žile. V krvi ga lahko zaznamo 30 min po ugrizu, njegova koncentracija doseže vrh v dveh urah po ugrizu in nato postopno upada nekaj dni. Strup laškega gada, ki so ga vbrizgali v podkožje, se dobro porazdeli po telesu, kar kaže tudi visok volumen porazdelitve ($V_d = 21/\text{kg}$), posledica pa je dolg razpolovni čas. Visok volumen porazdelitve je posledica dobrega prehajanja skozi stene žil (13). V 10–50 % primerov kača ob ugrizu strupa ne izloči – takemu ugrizu pravimo suhi ugriz (10, 14). Toksikokinetika strupa narekuje tudi klinično obravnavo zastrupljenca. Zadošča namreč dveurno opazovanje bolnikovega stanja.

Če v tem času ne razvije lokalnih ali sistemskih znakov zastrupitve, lahko sklepamo, da gre za ugriz nestrupene kače ali pa za suhi ugriz.

K izraženosti klinične slike poleg količine vbrizganega strupa prispevajo tudi mesto ugriza, vrsta kače in pridružena bolezenska stanja. Glavni organski sistemi, na katere delujejo kačji strupi, so živčevje, mišičje, kri in krvožilni sistem. Lokalnim znakom zastrupitve (kot so bolečina, oteklina, podkožne podplutbe z mehurji ali s hemoragično nekrozo in vnetje bezgavk) se lahko z zakasnitvijo pridružijo tudi sistemski, med katerimi so najpogostejši zapleti na prebavilih (bolečine v trebuhu, bruhanje in driska), redkejši pa so motnje zavesti, padec krvnega tlaka, motnje srčnega ritma, motnje strjevanja krvi in nevrološki izpadi. Izredno redko se zastrupitev konča smrtno (10). Najpogostejše klinične simptome in znake pri ugrizu naših strupenih kač prikazuje slika 2.

Molekularna sestava kačjega strupa

Kačji strupi so kompleksne mešanice zelo različnih polipeptidov in beljakovin, kratkih peptidov, aminoksilin, lipidov, nukleotidov, kovinskih ionov in ogljikovih hidratov v obliki glikoproteinov (10). Beljakovinske sestavine, ki so lahko encimsko aktivne ali pa ne, so se razvile tekom evolucije z namenom, da imobilizirajo ali ubijejo žrtev ter sodelujejo pri prebavljanju plena. Sklepajo, da imajo strupene kače (ki pripadajo trem omenjenim različnim družinam) po celem svetu skupen razvoj strupnih žlez, zato so tudi nekatere beljakovine v kačjih strupih splošno prisotne. Najbolj splošno razširjene so sekretorne fosfolipaze A2 (angl. *secretory phospholipase A2*, sPLA2). Pri različnih skupinah kač so se pod vplivom genetskih mutacij in naravnega izbora postopno razvile različne komponente, ki so oblikovale sestavo strupa vsake vrste v zmes z optimalnimi toksičnimi lastnostmi glede na



Slika 2. Lokalni in sistemski simptomi ter znaki in zapleti, ki se lahko razvijejo po ugrizu navadnega gada, modrasa in laškega gada (10). EKG – elektrokardiogram.

prehranski spekter, ki je odvisen od okolja, v katerem živijo (15). Večino strupenih komponent predstavljajo polipeptidi, ki so lahko encimsko aktivni ali pa ne. Ti imajo pogosto sinergistično usmerjeno delovanje, da zagotovijo hiter učinek na plen. Prehrana kače običajno vsebuje različne živalske vrste. Zato vsebuje kačji strup tako komponente, ki delujejo univerzalno na širok nabor različnih organizmov, kot tudi komponente, usmerjene v specifično molekularno tarčo pri določenem organizmu (16). Beljakovine v kačjem strupu so pogosto podvržene potranslacijski modifikaciji, kar pomeni, da se pogosto pod vplivom ostalih sestavin v strupu spremenijo po tem, ko se s pomočjo ribonukleinskih kislin prevedejo iz genskega zapisa (16). Sestava kačjega strupa je odvisna od vrstne in podvrstne pripadnosti, spola, življenjskega okolja, sezone, starosti in prehrane kače; vendar pa velja, da imajo sorodne kače tudi podobno sestavo in mehanizem delovanja strupa, kar velja tudi za kače, ki živijo pri nas (16–18).

Najbolje proučena sta strupa navadnega gada in modrasa, za katera sta določena tudi proteoma (16, 19, 20). Oba strupa vsebujeta beljakovine, ki jih uvrščamo v 11 različnih beljakovinskih družin (15, 21). Strup navadnega gada je enostavnejši od strupa modrasa, saj je bil pod enakimi pogoji gadov strup z dvodimenzionalno gelsko elektroforezo ločen v 160 različnih beljakovinskih lis, modrasov pa v 260. Gadov strup vsebuje predvsem manj sPLA2 in beljakovin, podobnih lektinom tipa C (angl. *C-type lectin-like proteins*, CLP) (20).

Z razlikami v sestavi strupa lahko do neke mere razložimo tudi razlike v klinični sliki zastrupitve. Nevrološke motnje so razmeroma pogoste pri ugrizih modrasa, a redke pri ugrizih gada, saj strup slednjega ne vsebuje amoditoksinov (angl. *ammoditytoxins*, Atx) oz. nevrotoksičnih sPLA2. Čeprav ima navadni gad gene, ki kodirajo nevrotoksične sPLA2, se ti izražajo le redko in v zelo omejenem obsegu. Tudi krvavitev in motnje strjevanja krvi so običajno huje izražene pri ugrizih modrasa (22).

SESTAVA IN DELOVANJE MODRASOVEGA STRUPA

Modrasov strup je zelo kompleksna zmes številnih beljakovin in peptidov iz skupine metaloproteinaz (MP) in njihovih tripeptidnih zaviralcev, sPLA2, serinskih proteaz (SP), disintegrinov, CLP, L-aminokislinskih oksidaz (angl. *L-aminoacid oxidase*, LAAO), s cisteinom bogatih izločevalnih beljakovin (angl. *cysteine-rich secretory protein*, CRISP), zaviralcev proteaz Kunitzovega tipa in žilnih rastnih dejavnikov (angl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) (20, 21, 23, 24).

Lokalni učinki

Modrasov strup na mestu ugriza pogosto povzroči otekline, ki jo spremljata bolečina in podplutba različnega obsega. Pridruženi so lahko tudi serohemoragična nekroza kože in podkožja s seroznimi mehurji, vnetje mezgovnic in področnih bezgavk, ki so otekle in boleče, ter razpad mišičnine. Omenjeni lokalni učinki so predvsem posledica delovanja encimsko aktivnih beljakovin, kot so MP (10, 25). Kačje MP skupaj s človeškimi beljakovinami ADAM (angl. *a disintegrin and metalloproteinase*) in ADAMTS (angl. *a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs*) tvorijo podružino repolizinov (M12B) družine MP M12, ki je podklan metcinkinov, ki vsebujejo vezavno mesto za cinkove Zn^{2+} ione ter strukturno ohranjen motiv, imenovan Met-obrat (24).

Nevrotoksičnost

Za nevrotoksični učinek strupa, ki se pojavi po ugrizu modrasa, so odgovorne predvsem sPLA2. Njihovo delovanje na molekularni ravni so podrobno proučevali Križaj in sodelavci (26–32). sPLA2 so ene glavnih komponent kačjih strupov. Katalizirajo od kalcija odvisno hidrolizo estrske vezi na položaju 2 v 1,2-diacil-3-sn-fosfogliceridih, pri čemer se sproščajo maščobne kisline in lizofosfolipidi (22). Med sPLA2 uvrščamo AtxA, AtxB, AtxC in amoditine (angl. *ammodytins*, Atn): AtnL, AtnI1, AtnI2, ki povzročajo tok-

sične učinke na živčevju, mišičju, srčni mišici in zavirajo strjevanje krvi (20, 33–35). Na samega modrasa sPLA2 ne učinkujejo toksično, saj ima ta v serumu specifične glikoproteinske zaviralce Atx, ki oblikujejo oligomere (36).

Atx delujejo predvsem na periferno živčevje, ob neposrednem injiciranju pa so zelo toksični tudi za osrednje živčevje. Poskusi na živčno-mišičnih preparatih so pokazali, da Atx zavirajo posredno spodbujeno krčenje mišic, ne vplivajo pa na neposredno izzvano mišično krčenje (21). Po vnosu v telo se lokalizirajo na mestu živčno-mišičnega stika, kjer se vežejo na doslej še neprepoznane receptorje na presinaptični membrani motoričnega živca (37). V njenem zunanem sloju nato hidrolizirajo fosfolipide, kar spremeni lastnosti aksoleme in olajša zlivanje sinaptičnih mešičkov z aksolemo, na kateri se pojavijo vbokline v obliki grške črke Ω . Dodatno se poveča tudi prevodnost nekaterih kalcijevih kanalčkov, kar še dodatno spodbuja sproščanje acetilholina. Število sinaptičnih mešičkov v živčnem končiču se zmanjša (38, 39).

Atx ne delujejo le na aksolemo, ampak vstopajo tudi v živčni končič (38, 39). V citosolu se vežejo na kalmodulin, kar poveča njihovo stabilnost in posredno encimsko aktivnost, ter na beljakovino 14-3-3, ki Atx predvidoma usmeri na mesto, kjer poteka endocitoza sinaptičnih mešičkov (21, 40). Tam Atx hidrolizirajo fosfolipide notranjega sloja plazemske membrane, tako spremenijo njeno lokalno ukrivljenost in ovirajo funkcijo amfifizina, s tem pa zavrejo proces endocitoze sinaptičnega mešička. V citosolu se Atx vežejo tudi na mitohondrije, povzročijo odprtje tranzicijskih por in razklop mitohondrijev, s čimer se prekine nastajanje ATP. Mitohondriji nabreknejo, se vakuolizirajo in poškodujejo. Povečana fosfolipoliza celičnih membran poruši uravnavanje koncentracije kalcijevih Ca^{2+} ionov v citosolu. Povišana koncentracija Ca^{2+} ionov poveča aktivnost celičnih hidrolaz (npr.

citosolne fosfolipaze A2 in kalpainov), kar ob pomanjkanju ATP vodi v obsežno degeneracijo živčnega končiča oz. v apoptozo motoričnega živca (21, 41).

V modrasovem strupu je bil odkrit tudi modrasov kimotripsinski zaviralec (angl. *Vipera ammodytes ammodytes chymotrypsin inhibitor*, VaaChi), ki tvori komplekse z AtxA. VaaChi spada med zaviralce proteaz Kunitzovega tipa. Kakšna je vloga teh kompleksov, še ni znano, možno pa je, da vezava VaaChi povečuje strupenost AtxA (42–44).

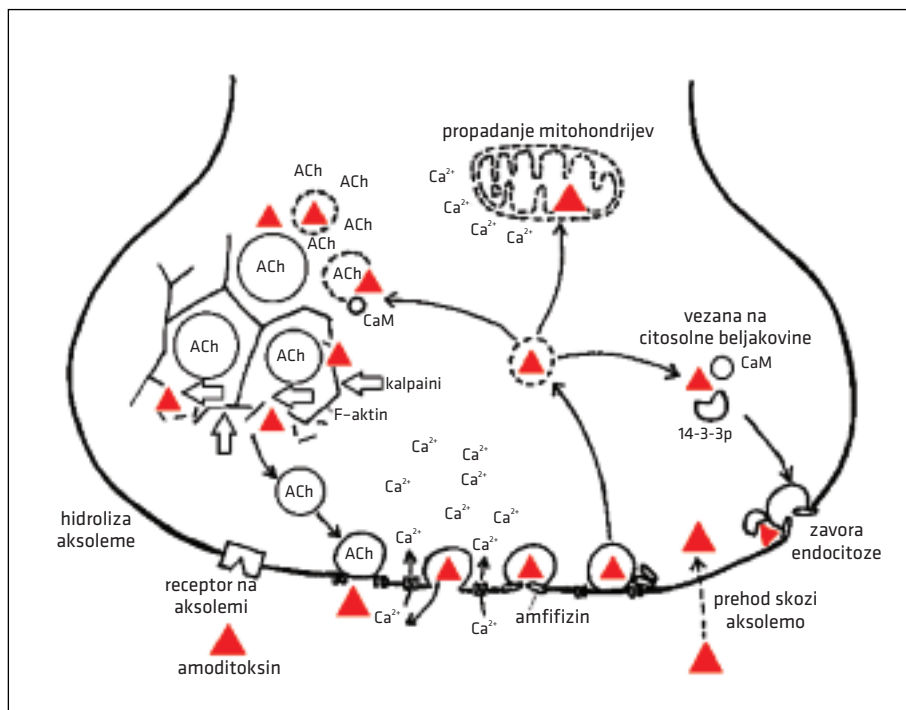
K nevrotoksičnosti modrasovega strupa bi lahko prispevali tudi CRISP. Nekateri od teh namreč vplivajo na prevajanje različnih ionskih kanalčkov, npr. kalijevih kanalčkov, kalcijevih kanalčkov tipa L ali kanalčkov, ki so sklopljeni s cikličnimi nukleotidi (16, 45). Iz modrasovega strupa je bil izoliran VaaCRISP-1 (angl. *Vipera ammodytes ammodytes cysteine-rich secretory protein 1*),

ki je zaenkrat brez dokazane farmakološke aktivnosti (20). Predlagani molekularni mehanizem delovanja Atx je prikazan na sliki 3.

V klinični praksi se je delovanje nevrotoksičnih sestavin modrasovega strupa izrazilo s povešenostjo vek, oftalmoplegijo, disfagijo, disfonijo in oslabeledostjo mišič (25, 46, 47).

Kardiotoksičnost

Kardiotoksične učinke modrasovega strupa (npr. spremembe frekvence utripanja srca, zmanjšanje pretoka krvi skozi koronarne arterije in motnje srčnega ritma), ki so bili dokazani v *ex vivo* poskusih na izoliranih podganjih srcih, pripisujemo predvsem delovanju miotoksičnega AtnL, encimsko neaktivne sPLA2. Lahko pa imajo delno vlogo tudi CRISP z delovanjem na katerega od ionskih kanalčkov, kar pa eksperimentalno še ni bilo dokazano (34, 35).



Slika 3. Predlog molekularnega mehanizma nevrotoksičnega delovanja amoditoksina iz strupa modrasa (21). ACh – acetilholin, CaM – kalmodulin, 14-3-3p – beljakovina 14-3-3.

Učinki na hemostazo in krvožilni sistem

Hemostatsko aktivne beljakovine modrasovega strupa vplivajo neposredno na krvne žile (vpliv MP), vazokonstrikcijo (vpliv VEGF in SP), koagulacijo (vpliv MP, SP in sPLA2) in agregacijo trombocitov (vpliv MP, sPLA2, CLP in disintegrini) in s tem vzajemno prispevajo k hemoragičnemu učinku strupa (slika 4) (23, 24, 48).

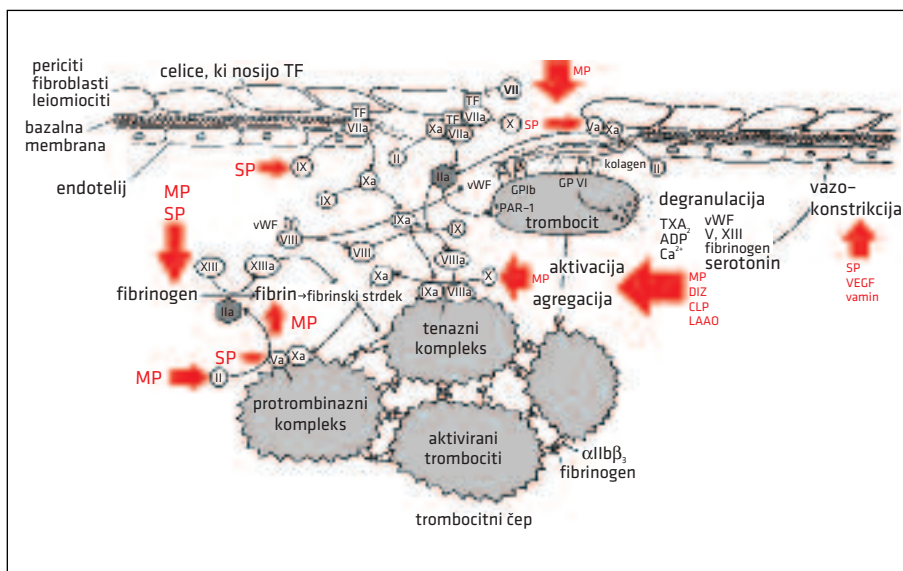
Modrasov strup pri človeku deluje predvsem hemoragično, najbolj izraženi posledici učinkovanja strupa pri odraslih pa sta krvavitev in lokalna poškodba tkiva (25). Surov modrasov strup zavira nastajanje krvnega strdka *in vitro*, na proces koagulacije krvi pa vpliva tako po antikoagulantnih kot tudi prokoagulantnih mehanizmih, kar kaže na obstoj več hemostatsko aktivnih molekul v modrasovem strupu (24).

Poškodba žilne stene

Zelo pomembne hemostatsko aktivne komponente modrasovega strupa so MP. Uvrščamo jih v tri velike razrede (20):

- P-I (obsega komponente s proteinazno domeno),
- P-II (obsega komponente s proteinazno in disintegrinsko domeno) ter
- P-III (obsega komponente s proteinazno, disintegrinsko in s cisteinom bogato domeno).

Proteolitična aktivnost MP je odvisna od Zn^{2+} iona v aktivnem mestu encima (20). V strupu modrasa so prisotni tudi tripeptidni zaviralci MP, ki so ene najmanjših komponent strupa. V strupni žlezi preprečujejo katalitično in avtokatalitično aktivnost MP (poleg drugih mehanizmov, kot je izražanje MP v obliki proencima, nizek pH, ki upočasni katalizo, in visoka koncentracija citratnih



Slika 4. Mesta delovanja beljakovin iz modrasovega strupa v hemostatskem sistemu (48). TF – tkivni dejavnik (angl. *tissue factor*), MP – metaloproteinaze, VII, VIIa, X, Xa, Va, II, Ila, IX, IXa, VIII, VIIIa – faktorji strjevanja, SP – serinske proteaze, vWF – von Willebrandov dejavnik (angl. *von Willebrand factor*), GPVI – glikoproteinski receptor za kolagen (angl. *glycoprotein VI*), GPIIb – trombocitni receptor za glikoprotein Ib (angl. *glycoprotein Ib*), TXA₂ – tromboksan A₂, DIZ – disintegrini, CLP – beljakovine, podobne lektinom tipa C (angl. *C-type lectin-like proteins*), LAO – L-aminokislinske oksidaze, VEGF – žilni rastni dejavnik (angl. *vascular endothelial growth factor*), α IIb β ₃ – trombocitni fibrinogeni receptor (angl. *integrin α -IIb β ₃*).

ionov, ki kelirajo Zn^{2+} ione). Iz strupa modrasa je bil zaenkrat izoliran le tripeptid z aminokislinskim zaporedjem piroglutamat-lizin-triptofan (pEKW). pEKW peptid je šibek reverzibilni zaviralec MP, ki z nizko afiniteto do aktivnega mesta na MP in visoko koncentracijo v strupu omogoča učinkovito zavoro MP znotraj strupne žleze in hitro aktivacijo MP v telesu žrtve po ugrizu (20).

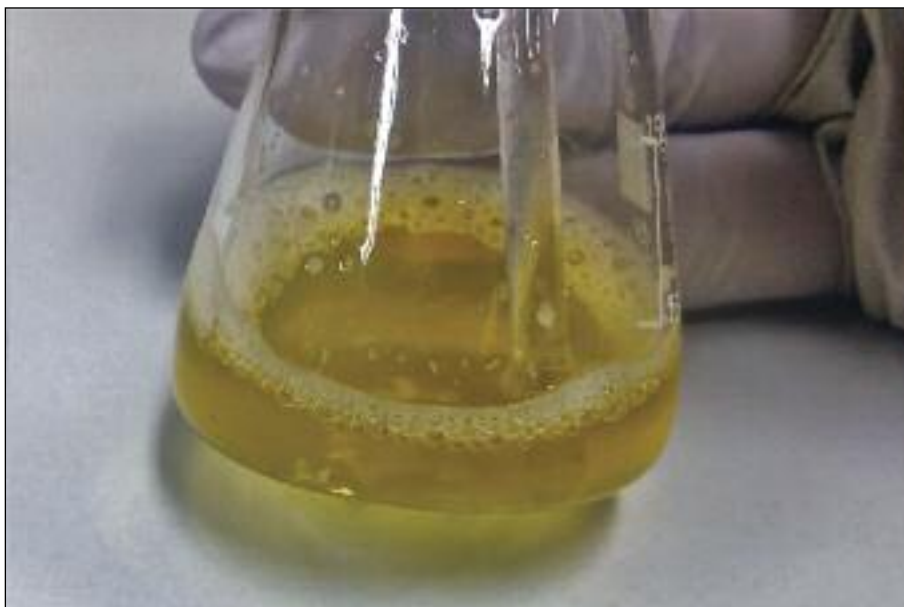
MP vplivajo na žilne stene majhnih kapilar tako, da s proteolitično razgradnjo komponent bazalne membrane in zunajceličnega matriksa oslabijo njihovo strukturo, kar privede do krvavitvev. Omenjene MP *in vitro* razgrajujejo nidogen, fibronektin in kolagen tipa IV (49–52). Izolirani so bili visokomolekularni hemoragini iz družine MP razreda P-IIIa (monomerna *Vipera ammodytes* hemoragina (VaH) 1 in VaH2) ter razreda P-IIIc (homodimerni VaH3 ter heterodimerna amoditagin in VaH4) (50–53). Najdeni so bili tudi njihovi nehemoragični homologi, ki spadajo med MP razreda P-IIIa, monomerna *Vipera am-*

modytes fibrinogenaza (VaF) 1 ter P-IIIc, amoditaza, ki pa imajo fibrino- in fibrinogenolitično vlogo, opisano spodaj (49, 54). Intenziteta razgradnje je najverjetneje pogojena z afiniteto interakcije med MP in komponento zunajceličnega matriksa, hemoragična aktivnost MP pa delno odstopnje njihove glikozilacije, katere vloga še ni povsem jasna (55, 56).

Modrasov strup vsebuje tudi najmanj pet različnih izooblik LAAO (19). LAAO, ki običajno nastopajo v homodimerni obliki, dajejo modrasovemu strupu značilno rumenkasto barvo zaradi prostetične skupine, flavin adenin dinukleotida (slika 5). Njihov toksičen učinek naj bi bil povezan z delovanjem vodikovega peroksida, ki se tvori pri reakciji oksidativne deaminacije L-aminokisljin in sproži apoptozo endotelnih celic (48).

Vazodilatacija

Hemoragični učinek strupa povečujejo komponente z vazodilatacijskim delovanjem, npr. homodimerni vamin, ki spada v družino



Slika 5. Vodna raztopina liofiliziranega modrasovega strupa. Značilno rumeno barvo mu dajejo L-aminokislinske oksidaze.

žilnih rastnih dejavnikov (angl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) tipa F in se s podobno afiniteto kot endogeni VEGF specifično veže na receptor žilnega rastnega dejavnika 2 (angl. *vascular endothelial growth factor receptor 2*, VEGFR-2). Vamin povzroča vazodilatacijo in padeč krvnega tlaka, saj spodbuja tvorbo dušikovega oksida v endoteliju, sproža delitev endotelijskih celic, pospeši angiogenezo in poveča prepustnost kapilar, s čimer olajša tudi absorpcijo kačjih toksinov v krvni obtok (57). Vazodilatatorno delujejo tudi plazemskemu kalikreinu podobne SP, ki z razgradnjo visokomolekularnega kininogena sproščajo vazodilatatorni bradikinin, vazoaktivne snovi iz plazemskih kininogenov in razgrajujejo angiotenzin I (58). Bradikinin sodeluje tudi kot posrednik v nastanku bolečine in lahko v večjih količinah sproži drisko, s čimer bi lahko vsaj teoretično prispeval tudi k izražanju teh simptomov v klinični sliki (slika 2). Drugih učinkov bradikina, kot so kašelj, krčenje gladkih mišic v prebavilih, dihalnih poteh in rodilih ter povečano izločanje nekaterih sluznic, pri bolnikih po ugrizu kače niso zasledili.

Zaviranje agregacije trombocitov

Komponente modrasovega strupa delujejo tudi na aktivacijo trombocitov. Hemoragični MP VaH3 in VaH4 šibko zavirata od kolagena odvisno agregacijo trombocitov, medtem ko nehemoragični VaF1 in amoditaza nanjo ne vplivata (49, 52). Od kolagena odvisno agregacijo trombocitov zavirata tudi MP podrazreda P-IIId s sposobnostjo aktivacije faktorja strjevanja X, VAFXA (angl. *Vipera ammodytes ammodytes factor X activator*) I in VAFXA-II (59). MP razreda P-III zavirajo od kolagena odvisno agregacijo trombocitov, tako da preprečijo interakcijo med integrinom $\alpha_2\beta_1$ in kolagenom (48). Disintegrini z vezavo na integrine *in vitro* intenzivno zavirajo od kolagena in ADP odvisno agregacijo trombocitov. Disintegrini iz modrasovega strupa zavirajo agregacijo

trombocitov tako, da se vežejo na fibronektinski receptor $\alpha_5\beta_1$, ki ima pomembno vlogo pri procesih angiogeneze, in zavirajo migracijo rakavih celic (60). Disintegrini se v strup sprostijo na dva načina: s potranslacijsko razgradnjo (proteolizo) modrasovih MP P-II na posamezne domene (MP namreč vsebujejo več domen, ena izmed njih je disintegrinska) ter z izražanjem preko kratkih prepisov informacijske ribonukleinske kisline (angl. *messenger ribonucleic acid*, mRNA), ki kodira le disintegrin (20).

Zaviranje aglutinacije trombocitov, odvisne od ristocetina *in vitro*, je posledica prisotnosti CLP, ki pa niso imeli vpliva na agregacijo trombocitov, odvisno od ADP in kolagena. Na podlagi podobnih CLP iz kačjih strupov domnevamo, da se modrasovi CLP specifično vežejo na trombocitni receptor za glikoprotein (GP) Ib ter *in vivo* preprečijo interakcijo z von Willebrandovim dejavnikom (angl. *von Willebrand factor*, vWF). S tem ovirajo proces od vWF odvisne aglutinacije trombocitov in adhezije trombocitov na subendotelijski kolagen, izpostavljen na mestih poškodovanega žilnega endotelija (24). CLP naj bi bili glavni povzročitelji trombocitopenije, ki je razmeroma pogost klinični znak pri bolnikih po ugrizu navadnega gada ali modrasa (25, 61).

Od kolagena in ADP odvisno agregacijo ter od ristocetina odvisno aglutinacijo trombocitov *in vitro* znatno zavirajo tudi sPLA2 (AtxA, AtxB, AtxC, AtnI1, AtnI2) (27). Predvidevajo, da je vpliv sPLA2 na agregacijo trombocitov posledica njihove fosfolipolitične aktivnosti (48). Na agregacijo trombocitov pa lahko preko še ne povsem pojasnjenih mehanizmov vplivajo tudi LAAO, ki jo lahko bodisi zavirajo ali spodbujajo. Vloga LAAO v modrasovem strupu še ni pojasnjena (48).

Antikoagulantni učinki

Beljakovine modrasovega strupa zavirajo proces koagulacije z razgradnjo fibrinogena, fibrina, protrombina in faktorja X ter

z zaviranjem nastanka protrombinaznega kompleksa. Močno fibrinogenolitične so MP razreda P-III, poleg njih pa tudi MP razredov P-I in SP (49–53). *Vipera ammodytes* serinska proteinaza 1 (VaSP-1) ima širok spekter delovanja, saj poleg fibrinogena in fibrina razgrajuje tudi protrombin, faktor X in plazminogen ter s tem najverjetneje povzroči porabo faktorjev strjevanja v krvi *in vivo* (62). VaH3, VaH4, VaF1 in amoditagin cepijo težko verigo faktorja X, kar ustvari encimsko neaktivne produkte, zavira nastajanje aktivirane oblike faktorja X in posledično fibrina (50). Najizrazitejšo antikoagulantno aktivnost imajo AtxA, AtxB in AtxC, ker z vezavo na aktivirano obliko faktorja X preprečijo nastanek protrombinaznega kompleksa. Močno podaljšajo protrombinski čas in aktivirani delni tromboplastinski čas (63).

Prokoagulantni učinki

V modrasovem strupu se nahajajo tudi prokoagulantne komponente (nekatero MP in SP), ki aktivirajo faktorje strjevanja IX, X in protrombin in s tem povzročijo njihovo pomanjkanje (24). V redkih primerih lahko s tem povzročijo razširjeno znotrajžilno koagulopatijo (21, 64). Prokoagulantni učinek imata npr. že zgoraj omenjeni VAFXA-I in VAFXA-II (54).

SESTAVA IN DELOVANJE STRUPA NAVADNEGA GADA

Največji delež beljakovin v gadovem strupu obsegajo nenevrotoksične sPLA2, ki jim sledijo SP, LAAO, CLP in CRISP. Beljakovine, podobne angiotenzinu, kininogenu in MP predstavljajo manjši delež (16, 20).

Lokalni učinki

Nekrozo, oteklino in hemoragične mehurje po koži poleg MP povzroča tudi hialuronidaza. Ta z razgradnjo hialuronske kisline v zunajceličnem matriksu povečuje prepustnost tkiv in absorpcijo strupa (16).

Nevrotoksičnost

V strupu navadnega gada je tudi nekaj nevrotoksičnih sestavin, npr. LAAO, ki povzročajo živčno-mišično blokado s poškodbo celične membrane. Med sestavinami z možnim nevrotoksičnim delovanjem uvrščamo tudi CRISP, ki bi lahko zavirali prevajanje signala po živčnem vlaknu z delovanjem na napetostno odvisne ionske kanalčke. Nevrotoksične sPLA2 so našli v strupu slovaškega gada, v strupu ruskega gada pa ne (16, 20, 22). Nevrotoksični učinki strupa navadnega gada so zelo redki. Opisani so bili samo v dveh primerih ugrizov, na Madžarskem in v Bolgariji (65, 66). Na Madžarskem sta se pri bolniku po ugrizu navadnega gada prehodno razvila škiljenje in dvojni vid, ki sta trajala 11 ur in nato spontano izzvenela (65). V Bolgariji pa je ugriz gada podvrste *Vipera berus bosniensis* povzročil dvojni vid in obojestransko povešanje veke (66).

Kardiotoksičnost

V literaturi so opisani tudi primeri kardiotoksičnega delovanja strupa navadnega gada, npr. miokardni infarkt, spremembe vala T in dviga spojnice ST, preddvorno-prekatni blok 2. stopnje, preddvorna fibrilacija in druge motnje srčnega ritma (61, 67–72). Učinke na srčno mišico podobno kot pri modrasovemu strupu pripisujemo AtnL, za katerega vemo, da je prisoten tudi v strupu navadnega gada (20, 35).

Učinki na hemostazo in krvožilni sistem

Strup navadnega gada ima pretežno hematotoksičen učinek, h kateremu prispevajo številne komponente, podobno kot pri modrasu (16, 73–77):

- Različni hemoragini, pa tudi LAAO, ki povečajo krvavitev s poškodbo žilne stene.
- Beljakovine, ki spremenijo delovanje trombocitov in povzročajo trombocitopenijo (LAAO, CLP, disintegrini in nekatere MP).

- Različne komponente z antikoagulacijskim učinkom (predvsem različne SP in sPLA2)
- Aktivatorji faktorjev strjevanja krvi, npr. protrombina in faktorja X (angl. *Vipera berus Factor X Activating Enzyme*, VBFXAE)
- MP, ki delujejo tudi fibrinogenolitično, aktivirajo plazminogen ter razgrajujejo fibrin.

Avtokatalitično delovanje MP tako kot pri modrasu zavira tripeptid pEKW (20). Izoliranih in določenih je bilo osem različnih vrst večinoma homodimernih CLP, ki so homologni CLP iz drugih vrst gadov (16). Opisan je bil heterodimerni disintegrin VB7 (lat. *Vipera berus* 7), ki se močno veže na receptor za fibronektin (integrin $\alpha_5\beta_1$) in s tem zavira adhezijo celic na fibronektin v krvni plazmi in zunajceličnem matriksu (78). Fibronektin ima pomembno vlogo pri celjenju ran in tvorbi krvnega strdka (79). LAAO iz strupa navadnega gada zavirajo z ADP sproženo agregacijo trombocitov *in vitro* in sprožajo apoptozo tumorskih celic (74). V gadovem strupu so prepoznali tudi zaviralca proteaz Kunitzovega tipa, ki je strukturno zelo podoben zaviralcu kimotripsina VaaChi v strupu modrasa (20). Zaviralci proteaz Kunitzovega tipa zavirajo aktivnost SP in lahko s tem povzročajo motnje v hemostazi, nekateri pa tudi blokirajo prevajanje kalijevih in kalcijevih kanalčkov. Predpostavljajo, da so vpleteni tudi v nastanek bolečine (20).

V strupu navadnega gada so našli štiri peptide, ki povečujejo delovanje bradikinina in s tem njegov učinek na znižanje krvnega tlaka (16). V strupu so prisotni tudi natriuretični peptidi, ki so s sinergističnim učinkom najverjetneje glavni povzročitelji padca sistemskega krvnega tlaka, opaženega pri nekaterih bolnikih po zastrupitvi s strupom navadnega gada (20, 71). Nasprotni učinek pa imajo aspartatne proteaze, po funkciji in aminokislinskem zaporedju podobne človeškemu reninu. Te s proteolizo pretvarjajo angiotenzinogen v angiotenzin I, ta pa se

dalje cepi v angiotenzin II, ki povzroča vazokonstrikcijo (16, 20). Neposredni učinek vazokonstrikcije skupaj z ostalimi učinki angiotenzina II, kot so povečanje izločanja noradrenalina iz simpatičnega živčevja, zadrževanje soli preko povečanega izločanja aldosterona in reabsorpcije natrija v proksimalnih tubulih, prispeva k zvišanju krvnega tlaka. Z višanjem krvnega tlaka naj bi aspartatne proteaze prispevale k poškodbi tkiva, ki jo povzročajo MP, in olajšale širjenje strupa po krvnem obtoku (20).

SESTAVA IN DELOVANJE STRUPA LAŠKEGA GADA

Tudi v strupu laškega gada so prisotne proteaze, hialuronidaze, kininogenaze ter komponente z vplivom na hemostatski sistem (npr. aktivatorji protrombina) (14).

Lokalni učinki

Ugriz laškega gada povzroči predvsem lokalno bolečino in otekanje, ki se jima pri težjih primerih lahko pridružijo tudi sistemski znaki. Opisan je npr. neznačilen primer tromboze v področju iliaikalnih žil s posledičnim infarktom črevesa (80).

Nevrotoksičnost

Redkeje se lahko takoj po zastrupitvi s strupom laškega gada pojavijo nevrološki izpadi. Najpogosteje se pojavi povešanje veke, redkeje pa oftalmoplegija, dvojni vid in motnje vida, dizartrija, disfonija, paraliza krožne ustne mišice (lat. *m. orbicularis oris*), motnje požiranja in parestezije (12, 81–83). Pojav nespecifičnih nevroloških znakov (npr. zaspanost, omotica, vrtoglavica, oslabelost) običajno sledi 4–12 ur po ugrizu (84–87). Opisan je celo pojav Guillain-Barréjevega sindroma pri bolniku, ki ga je ugriznil laški gad v Alpah južne Francije in ni prejel protiseruma. Za ta sindrom je značilna nenadna hitro potekajoča avtoimunska okvara perifernega živčevja, ki se kaže z ohlapno mišično oslabelostjo in blago okvaro distalne senzitorike. Pri omenjenem bolniku so

z metodo prenosa *western* dokazali navzkrižno reaktivnost med monosialičnim gangliozidom 2 (angl. *monosialic ganglioside 2, GM2*) in glikozidnimi epitopi na beljakovinah v kačjem strupu. Nevrološka motnja v tem primeru ni bila posledica nevrotoksinov v strupu, ampak avtoimunske reakcije (88).

Opisani primeri ugrizov z nevrološko simptomatiko se pojavljajo le na manjšem področju jugovzhodne Francije in Italije, najverjetneje zaradi posebnosti v sestavi strupa med geografsko ločenimi populacijami podvrste *Vipera aspis aspis*, ki vsebuje nevrotoksine (82–86, 89). Domnevno so te populacije nastale s križanjem med *Vipera ammodytes ammodytes* in *Vipera aspis aspis* (22). V genetskem zapisu laškega gada so odkrili gene za različne sPLA2, ki imajo glavno vlogo v nevrotoksičnosti strupa laškega gada: heterodimerni vaspin ter monomerne AtxA, AtxB in AtxC (85, 86, 90, 91). Pirazzini in sodelavci so v poskusih na celičnih kulturah živcev dokazali, da sPLA2 v strupu laškega gada povzročajo izbokline na živčnih celicah (92). V poskusih na miših so z injiciranjem strupa laškega gada v mišico povzročili mišično paralizo (odsotnost krčenja mišice soleus) in z elektrofiziološkimi metodami dokazali motnje živčno-mišičnega prenosa. Z imunohistokemičnimi barvanji so ugotovili, da strup laškega gada povzroči propadanje živčnega končiča pri motoričnem nevronu (92).

Kardiotoksičnost

Pri zastrupljenih in poskusnih živalih je strup laškega gada posredno preko sistemskega porasta tumor nekrotizirajočega dejavnika (angl. *tumor necrosis factor, TNF*) povzročil tudi kardiotoksične učinke (85, 93). Citokini, kot je TNF, povečajo vnetni odziv in oslabijo krčljivost srca.

Učinki na hemostazo in krvožilni sistem

Strup laškega gada vsebuje tudi hemoragične komponente, aktivator faktorja X in

komponente, ki povečajo prepustnost kapilar ter povzročajo hipotenzijo preko kalikreinu podobnega delovanja (94–97).

PROTISERUMI

Kljub temu da se sistemski znaki zastrupitve pri ugrizih evropskih strupenih kač razvijajo redkeje kot pri ugrizih številnih drugih kač, imajo lahko zastrupitve resen potek z življenje ogrožajočimi zapleti, predvsem pri otrocih in starejših osebah. Zmerne do hude zastrupitve zahtevajo uporabo protiseruma (98, 99). Protiserume pridobivamo z imunizacijo konjev ali ovac, ki jim v telo vbrizgamo naraščajoče odmerke celotnega strupa. Živali tvorijo proti različnim komponentam strupa usmerjena protitelesa, ki so nato izolirana iz njihove plazme in ustrezno predelana. Nekateri avtorji menijo, da so ovčji protiserumi manj imunogeni (povzročali naj bi manj alergijskih reakcij) in zato varnejši od konjskih (100). Afinitetno očiščeni protiserumi naj bi imeli tudi večjo učinkovitost na miligram fragmentov protiteles kot neočiščeni (101).

Sestava protiserumov

Protitelesa imunoglobulin (Ig) G so sestavljena iz dveh lahkih in dveh težkih verig, ki so medsebojno povezane z disulfidnimi vezmi. Verige enega protitelesa tvorijo dva fragmenta z vezavnim mestom za antigen (angl. *fragment antigen-binding, Fab*) in en fragment za vezavo na druge elemente imunskega sistema (angl. *fragment crystallizable region, Fc*). Vloga nativnih protiteles tipa IgG v organizmu je nevtralizacija mikroorganizmov ali strupov z vezavo na njihove epitope, aktivacija komplementa in opsonizacija. Pri izdelavi protistrupa s pomočjo encimske razgradnje s pepsinom oz. papainom praviloma odstranijo regijo Fc, zato protistrupi vsebujejo samo fragmente z regijami za vezavo antigena (monovalenten Fab ali dvovalenten F(ab')₂) za različne komponente strupa, ki ohranijo nevtralizacijske lastnosti, do aktivacije komplementa in opsonizacije

pa ne pride (slika 6). Če je regija Fc odstranjena, so fragmenti v protiserumu manj imunogeni, kar povečuje varnost protiseruma (100).

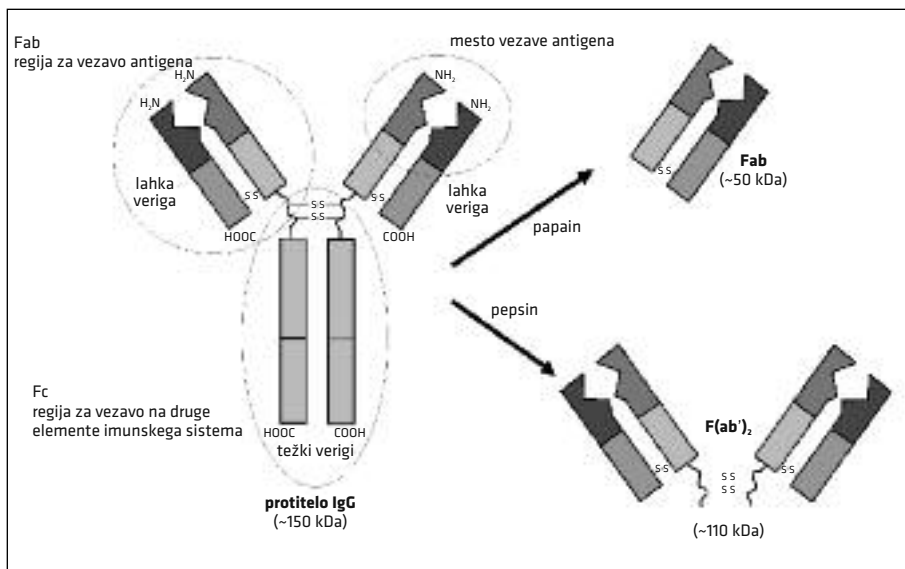
Pregled farmakoloških lastnosti

Protiserum po uporabi tako veže in nevtralizira komponente strupa, spremeni njegovo porazdelitev po telesu, zato pride manj strupa v tarčna tkiva, in vpliva na njegovo izločanje iz telesa (101). Fragmenti Fab imajo v telesu krajši razpolovni čas od fragmentov F(ab)₂ ali celih protiteles tipa IgG. Zaradi tega je verjetnost, da se pri uporabi protiserumov s fragmenti Fab klinična simptomatika povrne, vsaj teoretično večja, saj se strup počasi absorbira iz mesta ugriza v podkožju in dlje časa zadržuje v telesu kot fragmenti Fab. To lahko zahteva dodatne odmerke protiseruma (101). Višji odmerki protiseruma pa predstavljajo večjo količino heteroloških beljakovin, ki jih pri

zdravljenju prejme bolnik, kar povečuje možnost nastanka serumske reakcije in zvišuje stroške zdravljenja. Po drugi strani pa je pogostost neželenih učinkov pri uporabi protiserumov s fragmenti F(ab)₂ in še posebej IgG bistveno večja (102). Fragmenti Fab in F(ab)₂ so namreč manj imunogeni kot celotno protitelo (100).

Razlika med fragmenti Fab in F(ab)₂ ter celotnimi protitelesi je tudi v njihovi porazdelitvi po telesu, saj fragmenti z manjšo molekulsko maso lažje prodirajo v tkiva in so tako (vsaj teoretično) učinkovitejši. Njihovo učinkovitost po drugi strani zmanjšuje že omenjeno hitrejšo izločanje in zaradi boljšega prodiranja v tkivo tudi večji volumen porazdelitve. Iz teh razlogov je težko vnaprej napovedati, katera vrsta protiseruma je pri zastrupitvi s strupom določene vrste kače bolj učinkovita in varna (100).

Fragmenti protiteles z vezavo na različne komponente kačjega strupa v plazmi zastrupljenca tvorijo neaktivne komplekse,



Slika 6. Zgradba imunoglobulina G in dela protitelesa, ki vsebuje vezavna mesta za antigen, ki nastane z encimsko razgradnjo (100). Fab – fragment z enim vezavnim mestom za antigen (angl. *fragment antigen-binding*), Fc – fragment za vezavo na druge elemente imunskega sistema (angl. *fragment crystallizable region*), F(ab)₂ – fragment z dvema vezavnima mestoma za antigen (angl. *fragment antigen-binding*), IgG – imunoglobulin G.

ki jih odstrani monocitno-makrofagni sistem, pri kompleksih manjše velikosti (fragmenti Fab) pa se lahko v manjši meri izločijo iz telesa tudi z urinom (100).

Uporaba protiserumov v Evropi in v Sloveniji

V Evropi izdelujejo osem različnih vrst protiserumov (Biomed[®], Bulbio[®], Microgen[®], Vetel[®], Viekvin[®], ViperaTAB[®], ViperFAV[™] in zagrebški protiserum »*Immunoserum contra venena viperarum europaearum*«), vendar so podatki o njihovem delovanju skromni, primerjave učinkovitosti med njimi pa zelo skope (98, 103). Zelo malo je predkliničnih raziskav protiserumov, randomiziranih kliničnih raziskav, ki bi primerjale njihovo učinkovitost in varnost, pa nimamo. Nobeden od protiserumov na evropskem tržišču ni odobren s strani Evropske agencije za zdravila (European Medicines Agency). Šest proizvajalcev priporoča vnos v mišico, dva pa v veno (98). Lamb in sodelavci so objavili raziskavo učinkovitosti različnih protiserumov, ki temelji na objavljenih predkliničnih raziskavah, kliničnih primerih ter serijah primerov, ki so v glavnem retrospektivnega značaja (98). Njihova raziskava je zajela 2.602 bolnikov, ki so bili zdravljeni z enim od protiserumov. Največ (kar 2.061) bolnikov je prejelo »*Immunoserum contra venena viperarum europaearum*«, ViperFAV[™] ali ViperaTAB[®]. Vnos protiseruma v veno je bil povezan s kratko bolnišnično oskrbo, ki v primeru vnosa v mišico ni bila potrebna. Nekatere raziskave niso zaznale razlike med dolžino bolnišnične oskrbe pri bolnikih z enako stopnjo resnosti zastrupitve, ki so prejeli protiserum ali pa ne. Poročil o večkratnem odmerjanju priporočenega odmerka zaradi slabega učinka ali relapsa klinične simptomatike je malo (230/1.490 primerov), prav tako je malo tudi poročil o neželenih učinkih protiserumov (37/2.408 primerov, med njimi je sedem poročil o pojavu anafilaktične reakcije), kar bi lahko kazalo na to, da so sodobni protiserumi v splošnem varna zdravila (98).

Do nedavnega smo v Sloveniji uporabljali »*Immunoserum contra venena viperarum europaearum*«, ki pa od leta 2012 dalje zaradi neizpolnjevanja zahtev Evropske unije pri nas ni več na razpolago. Kot nadomestilo je bil nato do leta 2015 na voljo ViperFAV[™], vendar tudi slednjega v Sloveniji ni več možno kupiti. V zadnjih letih pri zdravljenju zastrupljenec uporabljamo ViperaTAB[®]. Nova spoznanja o farmakokinetiki protiserumov so prinesle nedavno objavljene raziskave kliničnih primerov bolnikov iz Slovenije (47, 104). Primerjavo omenjenih treh protiserumov predstavlja tabela 1.

Specifičnost protiseruma ViperaTAB[®]

V klinični praksi je pogosto težko zanesljivo razlikovati med ugrizom modrasa in navadnega gada. Do nedavnega je bilo vprašanje vrste kače zgolj teoretičnega pomena, danes pa imamo na voljo le monospecifičen protiserum ViperaTAB[®], usmerjen proti strupu navadnega gada. Z encimsko imuno-adsorpcijsko preiskavo (angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) in imunoblotom so dokazali imunološko navzkrižno reaktivnost med fragmenti Fab protiseruma ViperaTAB[®] in komponentami strupov vseh treh strupenih kač v Sloveniji. Poleg tega je ViperaTAB[®] pri miših učinkovito nevtraliziral smrtni učinek strupa vseh treh kač, uporabljeni odmerek strupa pa je bil petkrat višji, kot je smrtni odmerek za miške (4). Vendar pa nekatera klinična spoznanja teh ugotovitev ne podpirajo. Prospektivna raziskava kliničnih primerov Brvarja in sodelavcev je pokazala, da je pri bolnikih, ki jih je ugriznil modras, priporočeni odmerek ViperaTAB[®] uspešno zaustavil širjenje zmerne otekline in prehodno nevtraliziral sistemske učinke (npr. trombocitopenijo), pri zastrupitvah s hujšimi oteklina, prizadetostjo živčevja in višjimi koncentracijami amoditoksina v serumu pa je bil le delno učinkovit (47). Po vnosu ViperaTAB[®] je koncentracija modrasovega

Tabela 1. Nekatere značilnosti protistrupov »*Immunoserum contra venena viperarum europaearum*«, ViperFAV™ in ViperATAB® (47, 98, 104). Fab – fragment z enim vezavnim mestom za antigen (angl. *fragment antigen-binding*), F(ab')₂ – fragment z dvema vezavnima mestoma za antigen (angl. *fragment antigen-binding*).

Značilnosti	» <i>Immunoserum contra venena viperarum europaearum</i> «	ViperFAV™	ViperATAB®
Proizvajalec	Imunološki inštitut, Zagreb, Hrvaška	Aventis Pasteur, MSD, Lyon, Francija	MicroPharm Limited, Newcastle Emlyn, Združeno kraljestvo
Izvor	konjski	konjski	ovčji
Vrsta protiseruma	F(ab') ₂	F(ab') ₂	Fab
Vrste kač, proti strupom katerih je izdelan	<i>Vipera ammodytes</i>	<i>Vipera berus</i> , <i>Vipera aspis</i> , <i>Vipera ammodytes</i>	<i>Vipera berus</i>
Koncentracija protiteles	≤ 100 mg/ml	99–116 mg/ml	25 mg/ml
Skupna količina beljakovin v enem odmerku	≤ 1000 mg	396–468 mg	200 mg
Afinitetna očiščenost	ne	ne	da
Priljubljen odmerek in pot vnosa	10 ml im. (v hudih primerih do 40 ml iv.)	4 ml iv.	8 ml iv.
Nevtralizirajoče enote protistrupa pri ugrizu <i>Vipera berus</i>	> 50 ml	125 ml	> 100 ml
Nevtralizirajoče enote protistrupa pri ugrizu <i>Vipera ammodytes</i>	> 100 ml	250 ml	ni podano
Nevtralizirajoče enote protistrupa pri ugrizu <i>Vipera aspis</i>	> 100 ml	250 ml	ni podano

strupa v serumu upadla. Na koncentracijo amoditoksina protiserum ni imel vpliva (47).

Učinkovitost in varnost protiserumov

Vprašljiva je tudi učinkovitost zdravljenja ugriza modrasa z enkratnim priporočenim odmerkom ViperFAV™, ki naj bi bil sicer učinkovit proti strupom vseh treh vrst strupenih kač v Sloveniji. Pri moškem, ki ga je ugriznil modras, je šele po prejemu dveh priporočenih odmerkov ViperFAV™ prišlo do zmanjšanja lokalne otekline in povečanja števila trombocitov, čeprav je bil izračunan razpolovni čas protiseruma med najvišjimi znanimi. Z višjimi odmerki protiseruma narašča tveganje za pojav motenj srčnega

ritma in drugih neželenih učinkov, zato je nujno opazovanje takega bolnika (103). Pri omenjenem moškem se je namreč med infuzijo drugega odmerka ViperFAV™ poslabšala že obstoječa sinusna bradikardija in se je pojavil nadomestni nesinusni ritem. Do podobnih ugotovitev sta prišla tudi Personne in Hultén, ki ocenjujeta, da do ponovitve klinične simptomatike pri bolnikih po ugrizu navadnega gada, ki so prejeli le en odmerek ViperATAB®, prihaja razmeroma pogosto (pri najmanj 20 % primerov), kar zahteva dodaten odmerek protiseruma (105). Razlog za omenjeni pojav je najverjetneje krajši razpolovni čas protiseruma v primerjavi z razpolovnim časom strupa navadnega gada v krvi bolnika (105).

Pri presoji učinkovitosti in varnosti protiserumov ima pomembno vlogo tudi način vnosa protiseruma v telo. Kinetika pri im. vnosu, ki ga priporoča proizvajalec »*Immuno-serum contra venena vipe-rarum europaea-rum*«, je namreč bistveno drugačna kot pri iv. Fragmenti $F(ab')_2$ so po vnosu v mišico prisotni v telesu še več tednov, ko strupa kače sploh ni mogoče več dokazati, medtem ko je v času vnosa v mišico, ko je bolnikovo klinično stanje najbolj resno, njihova koncentracija v serumu razmeroma nizka. Vsaj teoretično bi bil daljši čas izločanja protiseruma iz telesa lahko povezan z večjim tveganjem za alergijske reakcije in serumske bolezni.

V želji po večji učinkovitosti in varnosti protistrupov se v zadnjem času razvijajo novejši, selektivno delujoči protistrupi, ki so specifično usmerjeni le proti najbolj toksičnim komponentam kačjega strupa. Obetaven je protiserum, pridobljen z imunizacijo zajcev z amoditaginom, ki je popolnoma nevtraliziral hemoragično aktivnost celotnega strupa v podganah (50). Spodbudne rezultate so pri poskusih na živalih dobili tudi z varespladibom, ki nevtralizira učinke sPLA2 pri 28 vrstah medicinsko pomembnih strupenih kač, med katerimi je tudi navadni gad (106).

ZAKLJUČEK

Kljub številnim raziskavam in objavam o venomiki kačjih strupov in izjemno raznolikih beljakovinah, ki jih ti vsebujejo, je naše poznavanje njihove sestave in delovanja še vedno nepopolno. Poznavanje bioloških lastnosti, sestave in delovanja kačjih strupov ne omogoča le razvoja novih in učinkovitejših protiserumov, ampak tudi molekularnih orodij za raziskave fizioloških procesov in laboratorijsko diagnostiko (npr. določanje ekarinskega in reptilaznega časa, koncentracije beljakovin C in S, faktorjev V in X, vWF, pomanjkljivosti kompleksa vWF/GPIb). Omogoča nam tudi razvoj (iskanje) spojin vodnic za nova zdravila, uporabna za zdravljenje raka, bolezni živčevja in srčno-žilnih bolezni (16, 60). Raziskave hemostatsko aktivnih beljakovin iz kačjih strupov so že privedle do nastanka antihipertenzivnih (npr. Captopril®), antiagregacijskih (npr. Integrilin®, Aggrastat®), trombolitičnih (npr. Defibrase®) in prokoagulantnih zdravil (npr. Haemocoagulase®) (23, 107). Koncepti imunotromboze, s katerimi si razlagamo povezavo med vnetnimi in trombotičnimi procesi, ki pri nekaterih stanjih potekajo sočasno, pa nudijo osnovo razvoju protivnetnih zdravil. Ugotovljeno je bilo, da disintegrin rodostomin deluje protivnetno preko zaviranja tvorbe citokinov v fagocitih (107).

LITERATURA

1. Mršič N. Plazilci (Reptilia) Slovenije. Ljubljana: Zavod Republike Slovenije za šolstvo; 1997.
2. Geniez P, Gruber U. Die Schlangen Europas. Schlangen aus Europa, Nordafrika und dem Mittleren Orient. Stuttgart: Kosmos; 2017.
3. Pommier P, de Haro L. Envenomation by Montpellier snake (*Malpolon monsepsulanus*) with cranial nerve disturbances. *Toxicon*. 2007; 50 (6): 868–9.
4. Casewell NR, Al-Abdulla I, Smith D, et al. Immunological cross-reactivity and neutralisation of European viper venoms with the monospecific *Vipera berus* antivenom ViperaTAB. *Toxins (Basel)*. 2014; 6 (8): 2471–82.
5. Zuffi MAL. A critique of the systematic position of the asp viper subspecies *Vipera aspis aspis* (Linnæus, 1758), *Vipera aspis atra* Meisner, 1820, *Vipera aspis francisciredi* Laurenti, 1768, *Vipera aspis hugyi* Schinz, 1833 and *Vipera aspis zinnikeri* Kramer, 1958. *Amphibia-Reptilia*. 2002; 23: 191–213.
6. Torkar G. Najdba laškega gada *Vipera aspis* v Breginjskem kotu poleti 2001. *Natura Sloveniae*. 2003; 5 (2): 65–7.
7. Kumar B. Nove najdbe laškega gada (*Vipera aspis*) v Sloveniji. *Natura Sloveniae*. 2009; 11 (1): 59–63.
8. Krofel M, Cafuta V, Planinc G, et al. Razširjenost plazilcev v Sloveniji: pregled podatkov, zbranih do leta 2009. *Natura Sloveniae*. 2009; 11 (2): 61–99.
9. ChippauxJP. Epidemiology of snakebites in Europe: a systematic review of the literature. *Toxicon*. 2012; 59 (1): 86–99.
10. Grec D. Ugrizi strupenih kač. *Med Razgl*. 2009; 48 (1–2): 141–51.
11. Petite J. Viper bites: treat or ignore? Review of a series of 99 patients bitten by *Vipera aspis* in an alpine Swiss area. *Swiss Med Wkly*. 2005; 135 (41–42): 618–25.
12. De Haro L. Management of snakebites in France. *Toxicon*. 2012; 60 (4): 712–8.
13. Rivière G, Choumet V, Saliou B, et al. Absorption and elimination of viper venom after antivenom administration. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998; 285 (2): 490–5.
14. Audebert F, Sorkine M, Robbe-Vincent A, et al. Viper bites in France: Clinical and biological evaluation; kinetics of envenomations. *Hum Exp Toxicol*. 1994; 13 (10): 683–8.
15. Tasoulis T, Isbister GK. A review and database of snake venom proteomes. *Toxins (Basel)*. 2017; 9 (9): 290.
16. Bocian A, Urbanik M, Hus K, et al. Proteome and peptidome of *Vipera berus berus* venom. *Molecules*. 2016; 21 (10): 1398.
17. Gubenšek F, Sket D, Turk V, et al. Fractionation of *Vipera ammodytes* venom and seasonal variation of its composition. *Toxicon*. 1974; 12 (2): 167–71.
18. Lang Balija M, Vrdoljak A, Habjanec L, et al. The variability of *Vipera ammodytes ammodytes* venoms from Croatia: Biochemical properties and biological activity. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2005; 140 (2): 257–63.
19. Georgieva D, Risch M, Kardas A, et al. Comparative analysis of the venom proteomes of *Vipera ammodytes ammodytes* and *Vipera ammodytes meridionalis*. *J Proteome Res*. 2008; 7 (3): 866–86.
20. Latinovič Z, Leonardi A, Šribar J, et al. Venomics of *Vipera berus berus* to explain differences in pathology elicited by *Vipera ammodytes ammodytes* envenomation: Therapeutic implications. *J Proteom*. 2016; 146: 34–47.
21. Križaj I. Molekularni vidik toksičnosti slovenskih kač. In: Brvar M, ed. Toksikologija 2015: piki in ugrizi strupenih živali; 2015 Apr 10; Ljubljana: Slovensko zdravniško društvo, Sekcija za klinično toksikologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Center za zastrupitve, Interna klinika; 2015. p. 10–4.
22. Guillemain I, Bouchier C, Garrigues T, et al. Sequences and structural organization of phospholipase A2 genes from *Vipera aspis aspis*, *V. aspis zinnikeri* and *Vipera berus berus* venom. *Eur J Biochem*. 2003; 270 (13): 2697–706.
23. Sajevec T. Hemostatsko-aktivni proteini iz strupa modrasa (*Vipera a. ammodytes*) [doktorsko delo]. Ljubljana: Mednarodna podiplomska šola Jožefa Stefana; 2014.
24. Sajevec T, Leonardi A, Križaj I. An overview of hemostatically active components of *Vipera ammodytes ammodytes* venom. *Toxin Rev*. 2013; 33 (1–2): 33–6.
25. Lukšič B, Bradarič N, Prgomet S. Venomous snakebites in southern Croatia. *Coll Antropol*. 2006; 30 (1): 191–7.
26. Pungerčar J, Križaj I. Understanding the molecular mechanism underlying the presynaptic toxicity of secreted phospholipases A₂. *Toxicon*. 2007; 50 (7): 871–92.
27. Križaj I. Ammodytoxin: a window into understanding presynaptic toxicity of secreted phospholipases A₂ and more. *Toxicon*. 2011; 58 (3): 219–29.
28. Šribar J, Oberčkal J, Križaj I. Understanding the molecular mechanism underlying the presynaptic toxicity of secreted phospholipases A(2) – an update. *Toxicon*. 2014; 89: 9–16.
29. Logonder U, Križaj I, Rowan EG, et al. Neurotoxicity of ammodytoxin A in the envenoming bites of *Vipera ammodytes ammodytes*. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2008; 67 (10): 1011–9.

30. Ritonja A, Gubenšek F. Ammodytoxin A, a highly lethal phospholipase A₂ from *Vipera ammodytes ammodytes* venom. *Biochim Biophys Acta*. 1985; 828 (3): 306–12.
31. Kordiš D, Križaj I. Secreted Phospholipases A₂ with β-Neurotoxic Activity. In: Gopalakrishnakone P, Inagaki H, Vogel CW, et al., eds. *Snake Venoms*. Dordrecht: Springer; 2017. p. 67–86.
32. Vardjan N, Mattiazzi M, Rowan EG, et al. Neurotoxic phospholipase A₂ toxicity model: An insight from mammalian cells. *Commun Integr Biol*. 2013; 6 (3): e23600.
33. Lomonte B, Gutiérrez JM. Phospholipases A₂ from viperidae snake venoms: how do they induce skeletal muscle damage? *Acta Chim Slov*. 2011; 58 (4): 647–59.
34. Karabuva S, Brizić I, Latinović Z, et al. Cardiotoxic effects of the *Vipera ammodytes ammodytes* venom fractions in the isolated perfused rat heart. *Toxicon*. 2016; 121: 98–104.
35. Karabuva S, Lukšić B, Brizić I, et al. Ammodytin L is the main cardiotoxic component of the *Vipera ammodytes ammodytes* venom. *Toxicon*. 2017; 139: 94–100.
36. Šribar J, Kovačič L, Drašković P, et al. The first phospholipase inhibitor from the serum of *Vipera ammodytes ammodytes*. *FEBS J*. 2007; 274 (23): 6055–64.
37. Logonder U, Jenko-Pražnikar Z, Scott-Davey T, et al. Ultrastructural evidence for the uptake of a neurotoxic snake venom phospholipase A₂ into mammalian motor nerve terminals. *Exp Neurol*. 2009; 219 (2): 591–4.
38. Petrovič U, Šribar J, Pariš A, et al. Ammodytoxin, a neurotoxic secreted phospholipase A₂, can act in the cytosol of the nerve cell. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 324 (3): 981–5.
39. Jenko Pražnikar Z, Kovačič L, Rowan EG, et al. A presynaptically toxic secreted phospholipase A₂ is internalized into motoneuron-like cells where it is rapidly translocated into the cytosol. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1783 (6): 1129–39.
40. Kovačič L, Novinec M, Petan T, et al. Calmodulin is a non-essential activator of secretory phospholipase A₂. *Biochemistry*. 2009; 48 (47): 11319–28.
41. Jenko Pražnikar Z, Petan T, Pungercar J. A neurotoxic secretory phospholipase A₂ induces apoptosis in motoneuron-like cells. *Ann NY Acad Sci*. 2009; 1152: 215–24.
42. Župunski V, Kordiš D, Gubenšek F. Adaptive evolution in the snake venom Kunitz/BPTI protein family. *FEBS Lett*. 2003; 547 (1–3): 131–6.
43. Ritonja A, Turk V, Gubenšek F. Serine protease inhibitors from *Vipera ammodytes ammodytes* venom. Isolation and kinetic studies. *Eur J Biochem*. 1983; 133 (2): 427–32.
44. Brgles M, Kurtović T, Kovačič L, et al. Identification of proteins interacting with ammodytoxins in *Vipera ammodytes ammodytes* venom by immuno-affinity chromatography. *Anal Bioanal Chem*. 2014; 406 (1): 293–304.
45. Yamazaki Y, Morita T. Structure and function of snake venom cysteine-rich secretory proteins. *Toxicon*. 2004; 44 (3): 227–31.
46. Radonić V, Budimir D, Bradarić N, et al. Envenomation by the horned viper (*Vipera ammodytes* L.). *Mil Med*. 1997; 162 (3): 179–82.
47. Brvar M, Kurtović T, Grenc D, et al. *Vipera ammodytes* bites treated with antivenom ViperaTAb: a case series with pharmacokinetic evaluation. *Clin Toxicol (Phila)*. 2017; 55 (4): 241–8.
48. Sajevec T, Leonardi A, Križaj I. Haemostatically active proteins in snake venoms. *Toxicon*. 2011; 57 (5): 627–45.
49. Leonardi A, Fox JW, Trampuš-Bakija A, et al. Ammodytase, a metalloprotease from *Vipera ammodytes ammodytes* venom, possesses strong fibrinolytic activity. *Toxicon*. 2007; 49 (6): 833–42.
50. Kurtović T, Brgles M, Leonardi A, et al. Ammodytagin, a heterodimeric metalloproteinase from *Vipera ammodytes ammodytes* venom with strong hemorrhagic activity. *Toxicon*. 2011; 58 (6–7): 570–82.
51. Sajevec T, Leonardi A, Kovačič L, et al. VaH3, one of the principal hemorrhagins in *Vipera ammodytes ammodytes* venom, is a homodimeric P-IIIc metalloproteinase. *Biochimie*. 2013; 95 (6): 1158–70.
52. Leonardi A, Sajevec T, Kovačič L, et al. Hemorrhagin VaH4, a covalent heterodimeric P-III metalloproteinase from *Vipera ammodytes ammodytes* with a potential antitumour activity. *Toxicon*. 2014; 77: 141–55.
53. Leonardi A, Gubenšek F, Križaj I. Purification and characterisation of two hemorrhagic metalloproteinases from the venom of the long-nosed viper, *Vipera ammodytes ammodytes*. *Proteins*. 2001; 40 (1): 55–62.
54. Leonardi A, Sajevec T, Latinović Z, et al. Structural and biochemical characterisation of VaF1, a P-IIIa fibrinogenolytic metalloproteinase from *Vipera ammodytes ammodytes* venom. *Biochimie*. 2015; 109: 78–87.
55. Chen HS, Chen JM, Lin CW, et al. New insights into the functions and N-glycan structures of factor X activator from Russell's viper venom. *FEBS Journal*. 2008; 275 (15): 3944–58.
56. Oliveira AK, Paes Leme AF, Asega AF, et al. New insights into the structural elements involved in the skin haemorrhage induced by snake venom metalloproteinases. *J Thromb Haemost*. 2010; 104 (3): 485–97.

57. Yamazaki Y, Takani K, Atoda H, et al. Snake venom vascular endothelial growth factors (VEGFs) exhibit potent activity through their specific recognition of KDR (VEGF receptor 2). *J Biol Chem.* 2003; 278 (52): 51985–8.
58. Bailey GS, Shipolini RA. Purification and properties of a kininogen from the *Vipera ammodytes ammodytes*. *Biochem J.* 1976; 153: 409–14.
59. Leonardi A, Fox JW, Trampuš-Bakija A, et al. Two coagulation factor X activators from *Vipera ammodytes ammodytes* venom with potential to treat patients with dysfunctional factors IXa or VIIa. *Toxicon.* 2008; 52 (5): 628–37.
60. Latinović Z, Leonardi A, Petan T, et al. Disintegrins from the venom of *Vipera ammodytes ammodytes* efficiently inhibit migration of breast cancer cells. *Acta Chim Slov.* 2017; 64 (3): 555–9.
61. Magdalan J, Trocha M, Merwid-Lad A, et al. *Vipera berus* bites in the region of southwest Poland – a clinical analysis of 26 cases. *Wilderness Environ Med.* 2010; 21 (2): 114–9.
62. Kurtović T, Brgles M, Leonardi A, et al. VaSP1, catalytically active serine proteinase from *Vipera ammodytes ammodytes* venom with unconventional active site triad. *Toxicon.* 2014; 77: 93–104.
63. Prijatelj P, Charnay M, Ivanovski G, et al. The C-terminal and β -wing regions of ammodytoxin A, a neurotoxic phospholipase A₂ from *Vipera ammodytes ammodytes*, are critical for binding to factor Xa and for anticoagulant effect. *Biochimie.* 2006; 88(1): 69–76.
64. Lukšić B, Culić V, Stričević I, et al. Infant death after nose-horned viper (*Vipera ammodytes ammodytes*) bite in Croatia: a case report. *Toxicon.* 2010; 56 (8): 1506–9.
65. Malina T, Krecsak L, Korsós Z, et al. Snakebites in Hungary – epidemiological and clinical aspects over the past 36 years. *Toxicon.* 2008; 51 (6): 943–51.
66. Westerström A, Petrov B, Tzankov N. Envenoming following bites by the Balkan adder *Vipera berus bosniensis*: first documented case series from Bulgaria. *Toxicon.* 2010; 56 (8): 1510–5.
67. Moore RS. Second-degree heart block associated with envenomation by *Vipera berus*. *Arch Emerg Med.* 1988; 5 (2): 116–8.
68. Aravanis C, Ioannidis PJ, Ktenas J. Acute myocardial infarction and cerebrovascular accident in a young girl after a viper bite. *Br Heart J.* 1982; 47 (5): 500–3.
69. Chadha JS, Ashby DW, Brown JD. Abnormal electrodiogram after adder bite. *Br Heart J.* 1968; 30 (1): 138–40.
70. Czajka U, Wiątrzyk A, Lutyńska A. Mechanism of *Vipera berus* venom activity and the principles of antivenom administration in treatment. *Przegl Epidemiol.* 2013; 67 (4): 641–6, 729–33.
71. Hønge BL, Hedegaard SK, Cederstrøm S, et al. Hospital contacts after bite by the European adder (*Vipera berus*). *Dan Med J.* 2015; 62 (3): A5022.
72. Karlson-Stiber C, Salmonson H, Persson H. A nationwide study of *Vipera berus* bites during one year – epidemiology and morbidity of 231 cases. *Clin Toxicol (Phila).* 2006; 44 (1): 25–30.
73. Samel M, Siigur J. Medium molecular weight factor X activating enzyme from *Vipera berus berus* venom. *Toxicon.* 1995; 33 (1): 41–52.
74. Samel M, Vija H, Rönholm G, et al. Isolation and characterization of an apoptotic and platelet aggregation inhibiting L-amino acid oxidase from *Vipera berus berus* (common viper) venom. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1764 (4): 707–14.
75. Samel M, Vija H, Subbi J, et al. Metalloproteinase with factor X activating and fibrinolytic activities from *Vipera berus berus* venom. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2003; 135 (4): 575–82.
76. Samel M, Siigur J. Isolation and characterization of hemorrhagic metalloproteinase from *Vipera berus berus* (common viper) venom. *Comp Biochem Physiol.* 1990; 97 (2): 209–14.
77. Calderón L, Lomonte B, Gutiérrez JM, et al. Biological and biochemical activities of *Vipera berus* (European viper) venom. *Toxicon.* 1993; 31 (6): 743–53.
78. Calvete JJ, Moreno-Murciano MP, Theakston RD, et al. Snake venom disintegrins: novel dimeric disintegrins and structural diversification by disulphide bond engineering. *Biochem J.* 2003; 372 (3): 725–34.
79. Cho J, Mosher DF. Role of fibronectin assembly in platelet thrombus formation. *J Thromb Haemost.* 2006; 4 (7): 1461–9.
80. Beer E, Musiani R. A case of intestinal infarction following *Vipera aspis* bite. *Toxicon.* 1998; 36 (5): 729–33.
81. Schmitt C, Baleine J, Beaupertuis O, et al. Persistent neurologic symptoms despite Viperfav[®] antidote treatment after *Vipera aspis* bite: 2 cases. *Presse Med.* 2016; 45 (6 Pt 1): 601–2.
82. Re G, Trisolino G, Miglio F. Eye muscle paralysis after *Vipera aspis* envenomation. *J Accid Emerg Med.* 1999; 16 (6): 458.
83. Beer E, Putorti F. Dysphonia, an uncommon symptom of systemic neurotoxic envenomation by *Vipera aspis* bite. Report of two cases. *Toxicon.* 1998; 36 (5): 697–701.

84. De Haro L, Robbe-Vincent A, Saliou B, et al. Unusual neurotoxic envenomations by *Vipera aspis* snakes in France. *Hum Exp Toxicol*. 2002; 21 (3): 137–45.
85. De Haro L, Glaizal M, Tichadou L, et al. Asp viper (*Vipera aspis*) envenomation: experience of the Marseille Poison Centre from 1996 to 2008. *Toxins (Basel)*. 2009; 1 (2): 100–12.
86. Ferquel E, de Haro L, Jan V, et al. Reappraisal of *Vipera aspis* venom neurotoxicity. *PLoS ONE*. 2007; 2 (11): E1194.
87. Garrigues T, Dauga C, Ferquel E, et al. Molecular phylogeny of *Vipera Laurenti*, 1768 and the related genera *Macrovipera* (Reuss, 1927) and *Daboia* (Gray, 1842), with comments about neurotoxic *Vipera aspis aspis* populations. *Mol Phylogenet Evol*. 2005; 35 (1): 35–47.
88. Neil J, Choumet V, Le Coupance A, et al. Guillain-Barré syndrome: first description of a snake envenomation aetiology. *J Neuroimmunol*. 2012; 242 (1–2): 72–7.
89. Lonati D, Giampreti A, Rossetto O, et al. Neurotoxicity of European vipers in Italy: Pavia Poison Control Centre case series 2001–2011. *Clin Toxicol (Phila)*. 2014; 52 (4): 269–76.
90. Ramazanova AS, Zavada LL, Starkov VG, et al. Heterodimeric neurotoxic phospholipases A₂—the first proteins from venom of recently established species *Vipera nikolskii*: implication of venom composition in viper systematics. *Toxicon*. 2008; 51 (4): 524–37.
91. Jan V, Maroun RC, Robbe-Vincent A, et al. Toxicity evolution of *Vipera aspis aspis* venom: identification and molecular modelling of a novel phospholipase A₂ heterodimer neurotoxin. *FEBS Lett*. 2002; 527 (1–3): 263–8.
92. Pirazzini M, Zanetti G, Montecucco C, et al. Molecular and toxicological study of Italian viper venom neurotoxicity. In: 37th International Congress of the European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists (EAPCCT), 2017 May 16–19; Basel, Switzerland. *Clin Toxicol (Phila)*. 2017, 55 (5): 484.
93. Szold O, Ben-Abraham R, Frolkis I, et al. Tumor necrosis factor as a mediator of cardiac toxicity following snake envenomation. *Crit Care Med*. 2003; 31 (5): 1449–53.
94. Komori Y, Sugihara H. Biological study of muscle degenerating hemorrhagic factor from the venom of *Vipera aspis aspis* (aspic viper). *Int J Biochem*. 1988; 20 (12): 1417–23.
95. Komori Y, Nikai T, Sugihara H. Isolation and characterization of factor X activator from the venom of *Vipera aspis aspis*. *Int J Biochem*. 1990; 22 (9): 1053–60.
96. Komori Y, Sugihara H. Physiological and biochemical properties of a kallikrein-like enzyme from the venom of *Vipera aspis aspis* (aspic viper). *Toxicon*. 1988; 26 (12): 1193–203.
97. Komori Y, Sugihara H. Purification and physiological study of a hypotensive factor from the venom of *Vipera aspis aspis* (aspic viper). *Toxicon*. 1990; 28 (4): 359–69.
98. Lamb T, de Haro L, Lonati D, et al. Antivenom for European *Vipera* species envenoming. *Clin Toxicol (Phila)*. 2017; 55 (6): 557–68.
99. Leban V, Grenc D. Zdravljenje ugrizov strupenih kač v Sloveniji. In: Križman I, ed. 29. strokovni sestanek internistov 2017, zbornik predavanj; 2017 Oct 14–15. Ljubljana: Slovensko zdravniško društvo, Združenje internistov; 2017. p. 116–21.
100. Erdman AR, Dart RC. Snake Antivenoms for the United States. In: Dart RC (ed.) *Medical Toxicology*. Third Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 249–56.
101. Bush SP, Ruha AM, Seifert SA, et al. Comparison of F(ab')₂ versus Fab antivenom for pit viper envenomation: A prospective, blinded, multicenter, randomized clinical trial. *Clin Toxicol (Phila)*. 2015; 53 (1): 37–45.
102. White J. Snake venoms and coagulopathy. *Toxicon*. 2005; 45 (8): 951–67.
103. Persson H. Envenoming by European vipers antivenom treatment—influence on morbidity. *Przegł Lek*. 2001; 58 (4): 223–5.
104. Kurtović T, Brvar M, Grenc D, et al. A single dose of Viperfav™ may be inadequate for *Vipera ammodytes* snake bite: a case report and pharmacokinetic evaluation. *Toxins (Basel)*. 2016; 8 (8): E244.
105. Personne M, Hultén P. The need of a second antivenom dose after snake bites by *Vipera berus*. 37th International Congress of the European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists (EAPCCT), 2017 May 16–19, Basel, Switzerland. *Clin Toxicol (Phila)*. 2017; 55 (5): 488.
106. Lewin M, Samuel S, Merkel J, et al. Varespladib (LY315920) Appears to be a potent, broad-spectrum, inhibitor of snake venom phospholipase A₂ and a possible pre-referral treatment for envenomation. *Toxins (Basel)*. 2016; 8 (9): 248.
107. Huang TF, Hsu CC, Kuo YJ. Anti-thrombotic agents derived from snake venom proteins. *Thromb J*. 2016; 14 Suppl 1: 18.

Klara Mihelič¹

Tehnike odstranitve nebnic

Tonsillar Dissection Techniques

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: tonzilektomija, tonzilotomija, pooperativni zapleti

Absolutne indikacije za odstranitev nebnic so rak nebnic, zapora dihalnih poti zaradi hipertrofije nebnic in vztrajna krvavitev iz nebnic. Ponavljajoči se akutni tonsilitis, kronični tonsilitis in ponavljajoči se peritonsilarni abscesi so relativne indikacije za operacijo. Glede na obseg odstranjenega tkiva se odločamo med tonzilektomijo, kjer odstranimo nebnico v celoti skupaj s kapsulo, in tonzilotomijo, kjer odstranimo del nebnic, kapsulo pa ohranimo. Pri operaciji uporabljamo vroče tehnike, pri katerih za odstranitev nebnic in hemostazo uporabljamo elektrokirurške inštrumente, ki povzročajo pregrevanje tkiva, oz. hladne tehnike, pri katerih uporabljamo skalpele, kirete in škarje. V literaturi je opisana večja pojavnost pooperativnih krvavitev in bolečin pri tonzilektomiji kot pri tonzilotomiji. Glede na dolgoročne učinke sta se obe tehniki izkazali za primerljivo uspešni. Tonzilotomija v večji meri upravičuje svoje stroške kot tonzilektomija.

ABSTRACT

KEY WORDS: tonsillectomy, tonsillotomy, postoperative complications

The current absolute indications for tonsillectomy are tonsillar cancer, severe airway obstruction due to tonsillar hypertrophy, and persistent tonsillar haemorrhage. Recurrent acute tonsillitis, chronic tonsillitis, and recurrent peritonsillar abscess are relative indications for the operation. Depending on the amount of the dissected tonsillar tissue, either a tonsillectomy, aiming to remove the entire tissue of the tonsil together with the capsule, or a tonsillotomy, where only a part of the tonsil is dissected while the capsule is preserved, can be performed. The operative procedure can be done via hot dissections, meaning that electrosurgical instruments are used, which cause the overheating of the tissues, or via cold dissections, where scalpels, curettes and scissors are used. According to literature, postoperative haemorrhage and pain are greater after tonsillectomy compared to tonsillotomy. Regarding long-term effects, both techniques are comparably successful. Tonsillotomy was found to be a better cost-benefit alternative than tonsillectomy.

¹ Klara Mihelič, dr. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; klara.mihelic93@gmail.com

UVOD

Operacija nebnic je ena najpogostejših operacij v medicini pri otrocih. Kljub temu da načeloma velja za varno, se lahko pojavijo zapleti. Najpogostejši so dehidracija, bolečina, vročina in oteklina jezička (lat. *uvula palatina*). Redkejši, toda nevarnejši so pooperativna krvavitev in anesteziološki zapleti (aspiracija in pljučni edem). Med njimi je pooperativna krvavitev v literaturi opisana kot najpogostejši življenje ogrožajoč dogodek po operaciji nebnic in se pojavlja v 0,22–3,5 % primerov. Na pojavnost vplivajo starost bolnika, izbira operacijske tehnike in izbira inštrumentov (1). V zadnjih desetletjih v strokovni literaturi vedno pogosteje omenjajo tonzilotomijo (TT) kot alternativo tonzilektomiji (TE) za zdravljenje hipertrofije nebnic. Po TT opisujejo manjše bolečine, hitrejšo vrnitev k vsakodnevnim dejavnostim, predvsem pa manjše pojavljanje pooperativnih krvavitev (2). Napredek v tehnologiji operativnih inštrumentov in operacijskih tehnik otežuje izbor najbolj primerne tehnike odstranitve nebnic za posameznika. Namen članka je predstaviti indikacije za odstranitev nebnic, prednosti in slabosti različnih načinov odstranitve ter primerjati tehnike glede na obseg odstranjenega tkiva.

ZGODOVINA OPERACIJ

Zdravljenje ponavljajočih se epizod akutnega tonzilitisa z odstranitvijo nebnic je zapisano že v Hipokratovi zbirki besedil okoli leta 400 pr. n. št. Nato je Cornelius Celsus v prvem stoletju prvi opisal postopek ločitve nebnice od sosednjih struktur z uporabo konice kazalca, hemostazo pa je dosegel z uporabo mešanice kisa in mleka. Zaradi nezadovoljive anestezije so se v 19. in 20. stoletju razvijale nove tehnike, katerih cilj je bil skrajšati čas operacije. Leta 1909 je Anglež George Ernest Waugh prvi izvedel ekstrakapsularno disekcijo s popolno odstranitvijo nebnic. Metodo so sprejeli mnogi zdravniki, razvili so se številni operacijski

pripomočki in izboljšave anestezijske tehnike. Število opravljenih TE se je hitro večalo, saj so se indikacije precej razširile – tudi kot preventiva pred faringitisom, streptokoknimi okužbami in poststreptokoknimi boleznimi v predantibiotični dobi (3).

INDIKACIJE ZA OPERACIJO

Po trenutnih medicinskih dognanjih sta nebnici del imunskega sistema in se ju odstranjuje samo takrat, ko je podana utemeljena medicinska indikacija (4). Absolutne indikacije za operacijo so rak nebnic, zapora dihalnih poti v orofarinksu zaradi hipertrofije nebnic, npr. v sklopu sindroma obstruktivne apneje med spanjem (angl. *obstructive sleep apnea syndrome*, OSAS), in dlje trajajoča krvavitev nebnice nejasnega vzroka. Relativne indikacije so ponavljajoči se akutni tonzilitis, kronični tonzilitis in ponavljajoči se peritonzilarni absces (5).

Med pediatrično populacijo je pogost razlog za operacijo nebnic in žrelnice OSAS (6). Pediatrični OSAS nastane zaradi zapore zgornjih dihalnih poti s hipertrofiranim tkivom nebnic in žrelnice, ki ni posledica aktivne okužbe (2). Nezdravljeni OSAS lahko vodi v pomembne srčno-žilne, kognitivne in vedenjske posledice, zato je pomembna zgodnja prepoznavna in zdravljenje (7).

Prav tako pogost razlog za odstranitev nebnic pri otrocih je ponavljajoči se akutni tonzilitis, ki je opredeljen kot štiri ali več okužb nebnic v enem letu, od katerih je vsaj ena povzročena s streptokoki skupine A. Ta se pri otrocih lahko zdravi konzervativno ali operativno. El Hennawi in sodelavci so z raziskavo dokazali, da je zdravljenje ponavljajočega se akutnega tonzilitisa pri otrocih z azitromicinom oz. benzilpenicilinom enako učinkovito kot TE (4). Smrt petih otrok v Avstriji v letih 2006–2007 zaradi krvavitve po TE je bila povod za nastanek novih smernic za operacijo nebnic pri otrocih. Tako je v Avstriji postavljena starostna meja za TE šest let, pri mlajših pa je operacija izbire zmeraj TT (8).

Pri odrasli populaciji je najpogostejša indikacija za TE ponavljajoči se akutni tonzilitis. Sledijo ponavljajoči se peritonzilarni abscesi in novotvorbe. Hipertrofija nebnic in OSAS obsegata zelo majhen delež operiranih (5). Chung in sodelavci so v raziskavi pri odraslih bolnikih ugotavljali skoraj 50-odstotni upad obiskov zdravnika zaradi akutnih okužb dihal po TE (9).

TE je tudi tehnika izbora pri periodičnem vročinskem sindromu z aftoznim stomatitisom, faringitisom in adenitisom (angl. *periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and cervical adenitis syndrome*, PFAPA). Po TE z adenoidektomijo ali brez nje se zagoni boleznih prenehajo pojavljati. Natančna vloga TE pri prenehanju simptomov sicer ni znana, lahko pa bi bila povezana z imunskim odgovorom tonzilarnega parenhima (10).

Pred postavitvijo indikacije za operacijo sta potrebna temeljit razmislek o smiselnosti operacije in pogovor z bolnikom oz. pri pediatrični populaciji z otrokovimi starši o njegovih/njihovih pričakovanjih. Tudi operacija nebnic namreč ima, kot vse ostale operacije, svoje zgodnje in pozne zaplete, o katerih pišemo v nadaljevanju članka.

TEHNIKE OPERACIJE GLEDE NA UPORABLJENE INŠTRUMENTE

V osnovi delimo TE glede na uporabljene inštrumente na vroče tehnike, pri katerih se tako za odstranitev nebnic kot za doseganje hemostaze uporablja elektrokirurške inštrumente, različne laserje ali radiofrekvenčne vire, ter hladne tehnike, pri katerih se izogibajo uporabi električnih pripomočkov, ki povzročajo pregrevanje tkiva (11). Hladne tehnike so povezane s pogostejšimi medoperativnimi krvavitvami in s tem slabšim pregledom nad operativnim poljem, medtem ko se pri vročih tehnikah večkrat omenja povečano tveganje za pozne krvavitve in pooperativno bolečino (3). Pri primerjavi pojavljanja prehodne bakteriemije med TE s hladno tehniko in bipolarnim elek-

tričnim nožem kot eno od vročih tehnik so Kocaturk in sodelavci v svoji raziskavi opazili, da je uporaba bipolarnega električnega noža preprečila razvoj prehodne bakteriemije. Sklepali so, da je dobra hemostaza preprečila prehod bakterij v vene nebničnega tkiva (12).

Hladno disekcijo izvajamo s skalpeli, ostrimi kiretami različnih velikosti, škarjami ali zankami, hemostaza pa se doseže s podvezami ali bipolarno elektrokoagulacijo. V skupino hladnih tehnik lahko uvrstimo tudi mikrodebrider (angl. *microdebrider*), ki s pomočjo mehanskega luščenja in sprotnega odsesavanja odlučenega tkiva omogoči natančno odstranitev nebnic. Ker pri tem ne nastaja toplota, se tako izognemo toplotnim poškodbam sosednjih tkiv. Hemostazo prav tako opravimo s podvezovanjem krvavečih žil oz. z bipolarno elektrokoagulacijo (13).

Med vroče tehnike prištevamo elektrokavterizacijo (uporabo električnih nožev), monopolarno in bipolarno diatermijo, uporabo harmoničnega skalpela, toplotno varjenje, koblacijo (angl. *cold-ablation, plasma-mediated ablation, bipolar radiofrequency ablation*), plazemsko koagulacijo z argonom in uporabo različnih laserjev (CO₂ laser, diodni laser, laser Nd:YAG) (11).

Elektrokavterizacijska odstranitev nebnic

Elektrokavterizacijska odstranitev nebnic je zamenjala hladne tehnike zaradi izboljšanja hemostaze. Neposreden stik med tkivom in elektrodami ustvarja temperaturo 400–600 °C. Ker tako visoke temperature povzročijo toplotno poškodbo sosednjih tkiv, imajo bolniki po operaciji dalj časa bolečine, bolečine pri požiranju in s tem lahko povezano dehidracijo (13).

Diametrija

Z diatermijo obenem režemo tkivo in koaguliramo krvne žile, temperatura v tkivu pa doseže 150–200 °C (14).

Harmonični skalpel

Harmonični skalpel vibrira z UZ frekvenco (55,5 kHz), ki spremeni tlak v tkivu in povzroči njegovo razpadanje. Prenesena energija denaturira beljakovine in koagulira krvne žile ob minimalni poškodbi sosednjih tkiv ter dosega temperature 60–100 °C (14).

Toplotno varjenje

Pri toplotnem varjenju se uporablja toplota in pritisk, ki skupaj denaturirata beljakovine v tkivu. Hkrati pa se varuje globlje ležeča tkiva z izolacijskimi elementi, ki absorbirajo sevalno energijo in zmanjšajo poškodbo tkiv zaradi toplote (15).

Koblacija

Koblacija je ena od novejših tehnik, ki se je sprva razvila v ortopedski kirurgiji. Pri postopku se uporablja radiofrekvenčna energija, ki se spusti preko prevodnega medija (običajno izotonične raztopine natrijevega klorida), da nastane plazemsko polje. Prednost te tehnike pred drugimi je, da imajo ioni dovolj energije za povzročitev molekulskega razpadanja tkiva pri nižjih temperaturah (40–70 °C). Tako se izognemo toplotnim poškodbam. Nato uporabimo koblacijsko žlico za popolno odstranitev nebnice. Ogromno koblatorjev je osnovanih tako, da je z njimi možno opraviti tudi hemostazo (16).

Plazemska koagulacija z argonom

Plazemska koagulacija z argonom je operacijska tehnika, pri kateri se visokofrekvenčni električni tok uvede preko ioniziranega prevodnega argona (angl. *argon plasma*) v tkivo. To povzroči povrhnje toplotno uničenje tkiva s prodiranjem do globine 1–2 mm, tako da je sočasna poškodba sosednjih tkiv minimalna (17).

Uporaba različnih tehnik operacij glede na uporabljene inštrumente

Walner in sodelavci so raziskovali trende v uporabi kirurških inštrumentov pri pediatrični adenotonzilektomiji v letih 2005–2015.

V tem obdobju so opazili trend odmikanja od hladnih tehnik k uporabi elektrokirurških tehnik. Monopolarna elektrokavterizacija ostaja najpogosteje v uporabi za TE in TT, narašča uporaba koblatorja, vse manj pa se uporabljajo hladne tehnike (1).

V Sloveniji se najpogosteje uporabljata klasična kirurška tehnika s kiretami, škargami in skalpelom ter koblator. Za zaustavljanje krvavitve se največkrat uporablja elektrokoagulacija, redkeje podvezovanje žil in približevanje nebnih lokov.

TEHNIKE GLEDE NA OBSEG ODSTRANJENEGA TKIVA NEBNIC Tonzilektomija

TE, imenovana tudi ekstrakapsularna TE, je postopek popolne odstranitve nebnice skupaj s kapsulo, pri tem se prekinejo krvne žile in doseže hemostaza z elektrokirurškim posredovanjem ali s podvezovanjem žil (11). Kljub različnim kirurškim inštrumentom so ob tem mišice žrela vedno vsaj malo poškodovane, v rani ostanejo žile ter živci razgabljeni in izpostavljeni bakterijam ter encimom v slini, ki sta pomembna dejavnika za nastanek pooperativne bolečine in krvavitve (3).

Tonzilotomija

TT, imenovana tudi intrakapsularna TE, je delna odstranitev nebnice, pri kateri kapsula ostane neprekinjena, in jo lahko razdelimo še v dva razreda (11):

- razred 1 (TT), kjer se odstrani tkivo, ki leži medialno od nebnih lokov, in
- razred 2 (parcialna/subtotalna/intrakapsularna TE), kjer se odstrani 90 % prostornine nebnice.

Tonziloplastika

Tonziloplastika (TP) ima enak cilj kot TT, torej zmanjšanje prostornine nebnic in ohranitev njihove imunološke funkcije, toda operativna tehnika se nekoliko razlikuje od TT. Pri TP se izvede disekcija odvečnega dela nebnice v obliki klina iz sredine

nebnice, nato pa se rekonstruira prvotna oblika nebnice tako, da se oba dela ostankov nebnice približa in zašije skupaj. S tem se omogoči primarno celjenje rane. Pri pregledu ustne votline tako ne opazimo očitnih razlik med bolniki, ki so imeli TP, in tistimi, ki niso imeli operativnih posegov na nebnicah (18).

Primerjava tonzilotomije in tonzilektomije

Pri primerjavi zapletov po TT in TE velja izpostaviti predvsem pooperativne krvavitve in bolečino. Pooperativne krvavitve se pojavljajo kot zgodnje krvavitve (12–24 ur po operaciji) ali pozne krvavitve z vrhom pojavnosti peti do osmi dan po operaciji, lahko tudi kasneje. Pozne krvavitve predstavljajo posebno težavo pri zaustavljanju, ker se običajno pojavijo, ko so bolniki že odpuščeni v domačo oskrbo. Nastanejo zaradi fiziološkega odstopa fibrinskih oblog iz rane. Večinoma se ustavijo spontano, le redko je za zaustavitev potreben ponoven operativni poseg (19).

Bender in sodelavci so v raziskavi primerjali pooperativne krvavitve med TT in TE pri odraslih. Krvavitev je bila opredeljena s Stammlbergerjevo klasifikacijo resnosti krvavitve, ki jih razdeli v pet razredov glede na videz rane, aktivnost krvavitve, način ukrepanja in posledice (20). Po TT se je krvavitev pojavila pri 12 %, po TE pa pri 29,6 % bolnikov in je bila glede na klasifikacijo resnejša (21). V literaturi opisana smrtnost po TE je v območju 1/1.000–1/170.000 operiranih bolnikov, najpogostejši vzrok smrti pa je pooperativna krvavitev (22). V avstrijski raziskavi ugotavljajo, da je pojavnost življenjsko nevarnih krvavitvev po TE večja pri otrocih kot pri odraslih in večja po TE kot po TT (8). Pri otrocih obstaja večja nevarnost za izkrvavitev, ker imajo manjšo prostornino krvi ter lahko relativno veliko krvi neopazno pogoltnejo oz. vdihnejo in se posledično zadušijo (19).

Cohen in sodelavci so primerjali bolečino ter porabo opioidnih analgetikov (paracetamola s kodeinom) med TE in TT pri otrocih, starih 5–19 let. Pri obeh tehnikah so bile kot glavni kirurški inštrument uporabljene bipolarne škarje. Ugotovili so statistično pomembno manj intenzivne bolečine in manjšo porabo analgetikov v prvih desetih dneh po operaciji v skupini otrok s TT (23). Po TT je prišlo do izzvenenja bolečine tri dni prej kot po TE. Sklepali so, da je bolečina manjša zato, ker se pri TT ohrani struktura mišic žrela in ker so poškodbe zaradi toplote manjše (6).

Kljub ugodnejšim izidom pri TT glede na pooperativne krvavitve in bolečino se pojavljajo pomisleki o prednosti TT pred TE. Ti se nanašajo na učinkovitost TT glede na nekatere indikacije, tveganje za ponovno rast nebnic iz ostanka tkiva, ali se bodo s tem simptomi pri bolnikih ponovno pojavili ter ali obstaja večje tveganje za pooperativne okužbe (18).

Poročajo, da se po TT ponovna rast nebnic in pooperativne okužbe pojavljajo pri približno 3 % operiranih (11). Vendar tudi TE popolnoma ne izključuje možnosti ponovne rasti nebnic, pooperativnega tonzilitisa ali peritonozilarnega abscesa (6).

V primerjavi dolgoročne učinkovitosti TT in TE v raziskavi na mladih (starih 16–25 let), ki so bili operirani zaradi obstruktivnih simptomov in epizod faringitisa, so eno leto po operaciji spremljali smrčanje, vnetja otorinolaringološkega področja, splošno zdravstveno stanje in zadovoljstvo z operacijo. Med obema tehnikama ni bilo pomembnih razlik v pogostosti ali glasnosti smrčanja. Prav tako ni bilo razlik med skupinama glede okužb otorinolaringološkega področja in uporabe antibiotikov. Obe skupini sta svoje splošno zdravje po operaciji ocenili primerljivo in izrazili zadovoljstvo z operacijo ne glede na metodo. Raziskava prikazuje pozitivne učinke na kazalce zdravja pri mladih eno leto po operaciji, ne glede na uporabljeno metodo. Razlog, da se je

TT izkazala za enako učinkovito kot TE pri odpravi simptomov OSAS, je posledica Bernoullijevega učinka. Po odstranitvi tkiva je dihalna pot širša in tako povzroča manj vibracij mehkega neba ali pa vibracij sploh ni. Malo tkiva nebnic, ki po TT ostane v nebnični kotanji, celo pomaga pri stabilizaciji stene žrela med tokom zraka skozenj (24).

Po dokazanih primerljivih uspešnostih TE in TT, zmanjšanju bolečine in pooperativnih krvavitev je potrebno raziskati še stroškovno učinkovitost obeh postopkov. Cena mikrobebriderja, ki se uporablja za TT, je višja kot cena elektrokavterja, ki je v uporabi pri TE. Stucken in sodelavci so izvedli raziskavo, v kateri so primerjali stroške TE in TT pri otroški populaciji, ki je imela eno ali drugo operacijo indicirano zaradi OSAS. Primerjali so operativni čas, čas v operacijski dvorani in čas v prebujevalnici, ukrepe zaradi pooperativnih krvavitev, ponovne sprejeme v bolnišnico in reoperacije zaradi ponovne rasti nebnic. V raziskavi so dokazali statistično pomembno razliko v prid TT pri postavkah operativnega časa, časa v operacijski dvorani, časa v prebujevalnici, deležu ponovnih sprejemov in številu obiskov urgence, ločeno od tistih, ki so bili sprejeti v bolnišnico. Raziskava ugotavlja manjše stroške TT z ozirom na zgoraj navedene kriterije (25).

ZAKLJUČEK

Odstranitev nebnic je še vedno ena od najpogostejših operacij v otorinolaringologiji in je s primerno tehniko ter v rokah izkušenega otorinolaringologa varen poseg. Pred operacijo sta potrebna skrbna anamneza in natančen klinični pregled, da se postavi pravilna indikacija za kirurški poseg. Izbira ustrezne tehnike glede na obseg odstranjenega tkiva je še vedno predmet razprav. Posebej pri otrocih je potreben tehten razmislek o izbiri tehnike z ozirom na možne pooperativne zaplete. Po trenutnih dognanjih o TT in TE nobena od tehnik ni jasno boljša od druge. Vsekakor samo zmanjšanje stroškov TT ne sme biti glavno vodilo pri odločanju za tehniko operacije. Potrebni bi bilo še več kliničnih raziskav, na podlagi katerih bi se lahko izoblikovale smernice za izbiro najprimernejše tehnike glede na indikacijo za operacijo.

ZAHVALA

Za mentorstvo in strokovno pomoč pri pisanju članka se zahvaljujem prof. dr. Ireni Hočevar Boltežar, dr. med., predstojnici Klinike za otorinolaringologijo in cervikofacialno kirurgijo Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana.

LITERATURA

1. Walner DL, Mularczyk C, Sweis A. Utilization and trends in surgical instrument use in pediatric adenotonsillectomy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2017; 100: 8–13.
2. Sorin A, Bent JP, April MM, et al. Complications of microdebrider-assisted powered intracapsular tonsillectomy and adenoidectomy. *Laryngoscope.* 2004; 114 (2): 297–300.
3. Windfuhr JP, Toepfner N, Steffen G, et al. Clinical practice guideline: tonsillitis II. Surgical management. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016; 273 (4): 989–1009.
4. El Hennawi DED, Geneid A, Zaher S, et al. Management of recurrent tonsillitis in children. *Am J Otolaryngol.* 2017; 38 (4): 371–4.
5. Galindo Torres BP, De Miguel Garcia F, Whyte Orozco J. Tonsillectomy in adults: analysis of indications and complications. *Auris Nasus Larynx.* 2017; 45 (3): 517–21.
6. Rubinstein BJ, Derkay CS. Rethinking surgical technique and priorities for pediatric tonsillectomy. *Am J Otolaryngol.* 2017; 38 (2): 233–6.
7. Tunkel DE, Hotchkiss KS, Carson KA, et al. Efficacy of powered intracapsular tonsillectomy and adenoidectomy. *Laryngoscope.* 2008; 118 (7): 1295–302.
8. Sarny S, Habermann W, Ossimitz G, et al. What lessons can be learned from the Austrian events? *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2013; 75 (3): 175–81.
9. Chung SD, Hung SH, Lin HC, et al. Decreased clinic visits for acute respiratory infections following an adult tonsillectomy: a population based study. *Am J Otolaryngol.* 2017; 38 (4): 488–91.
10. Peridis S, Koudounnakis E, Theodoridis A, et al. Surgical outcomes and histology findings after tonsillectomy in children with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome. *Am J Otorhinolaryngol.* 2010; 31 (6): 472–5.
11. Windfuhr JP, Savva K. Aktuelle Studienlage zur Tonsillotomie. *HNO.* 2017; 65 (1): 30–40.
12. Kocatürk S, Yildirim A, Demiray T, et al. Cold dissection versus bipolar cauterizing tonsillectomy for bacteremia. *Am J Otorhinolaryngol.* 2005; 26 (1): 51–3.
13. Gabr SI, Harhash KA, El Fouly MS, et al. Microdebrider intracapsular tonsillectomy versus conventional extracapsular tonsillectomy. *Egypt J Otolaryngol.* 2014; 30 (3): 220–4.
14. Arbin L, Enlund M, Knutsson J. Post-tonsillectomy pain after using bipolar diathermy scissors or the harmonic scalpel: a randomised blinded study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2017; 274 (5): 2281–5.
15. Cunningham LC, Chio EG. Comparison of outcomes and cost in patients undergoing tonsillectomy with electrocautery and thermal welding. *Am J Otolaryngol.* 2015; 36 (1): 20–3.
16. Pyonnonen M, Brinkmeier JV, Thorne MC, et al. Coblation versus other surgical techniques for tonsillectomy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; 8: CD004619.
17. Papaspyrou G, Linxweiler M, Knöbber D, et al. Laser CO₂ tonsillectomy versus argon plasma coagulation (APC) tonsillectomy: a retrospective study with 10-year follow up. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2017; 92: 56–60.
18. Chaidas KS, Kaditis AG, Papadakis CE, et al. Tonsilloplasty versus tonsillectomy in children with sleep-disordered breathing: short- and long-term outcomes. *Laryngoscope.* 2013; 123 (5): 1294–9.
19. Österreichische Gesellschaften für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Halschirurgie und Kinder- und Jugendheilkunde: Gemeinsame Empfehlung zur Entfernung der Gaumenmandeln (Tonsillectomie). *Monatsschrift Kinderheilkunde.* 2008; 156 (3): 268–71.
20. Sarny S, Ossimitz G, Habermann W, et al. Classification of posttonsillectomy hemorrhage. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2011; 145 (2 Suppl): P52.
21. Bender B, Blassnigg EC, Bechthold J, et al. Microdebrider-assisted intracapsular tonsillectomy in adults with chronic or recurrent tonsillitis. *Laryngoscope.* 2015; 125 (10): 2284–90.
22. Østvoll E, Sunnergren O, Ericsson E, et al. Mortality after tonsil surgery, a population study, covering eight years and 82,527 operations in Sweden. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2015; 272 (3): 737–43.
23. Cohen MS, Getz AE, Isaacson G, et al. Intracapsular vs. extracapsular tonsillectomy: a comparison of pain. *Laryngoscope.* 2007; 117 (10): 1855–8.
24. Ericsson E, Ledin T, Hultcrantz E. Long-term improvement of quality of life as a result of tonsillectomy (with radiofrequency technique) and tonsillectomy in youths. *Laryngoscope.* 2007; 117 (7): 1272–9.
25. Stucken EZ, Grunstein E, Haddad J Jr, et al. Factors contributing to cost in partial versus total tonsillectomy. *Laryngoscope.* 2013; 123 (11): 2868–72.

Nik Krajnc¹, Janez Jazbec²

Hemofagocitna limfohistiocitoza

Hemophagocytic Lymphohistiocytosis

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: hemofagocitna limfohistiocitoza, makrofag, citokinska nevihta, perforin

Hemofagocitna limfohistiocitoza je redek, vendar življenje ogrožajoč klinični sindrom, za katerega je značilna nenadzorovana aktivacija in razmnoževanje makrofagov in limfocitov ter z njo povezana citokinska nevihta. Ločimo primarno obliko sindroma, ki je povezana s številnimi genetskimi nepravilnostmi, med katerimi je najpogostejše pomanjkanje perforina, in sekundarno, ki jo lahko sprožijo okužba, avtoimunska bolezen ali maligno obolenje. Zanj so značilni vročina, hepatosplenomegalija, citopenija in infiltracija hematopoetskih organov z aktiviranimi makrofagi, ki lahko vodi v večorgansko odpoved in smrt. Zdravljenje je usmerjeno v zavoro imunskega sistema in odstranitev morebitnih sprožilnih dejavnikov.

ABSTRACT

KEY WORDS: hemophagocytic lymphohistiocytosis, macrophage, cytokine storm, perforin

Hemophagocytic lymphohistiocytosis is a rare but potentially fatal syndrome characterized by uncontrolled activation and proliferation of macrophages and lymphocytes together with an accompanying cytokine storm. It can occur as a primary disorder, which is associated with various genetic defects, the most common being perforin deficiency, and secondary, which is triggered by infection, an autoimmune disorder or cancer. The syndrome is clinically characterized by a fever, hepatosplenomegaly, cytopenia and the infiltration of hematopoietic organs with activated macrophages, often resulting in multi-organ system failure and death. Treatment is focused on immunosuppressive therapy and the treatment of any existing triggers.

¹ Nik Krajnc, dr. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; krajnc.nik@gmail.com

² Izr. prof. dr. Janez Jazbec, dr. med., Klinični oddelek za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana; Katedra za pediatrijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana

UVOD

Hemofagocitna limfohistiocitoza (HLH) je redek, vendar izjemno nevaren klinični sindrom, za katerega sta značilni prekomerna aktivacija imunskega sistema in citokinska nevihta. Pogosteje se pojavlja pri otrocih, vendar lahko prizadene tudi odrasle. Ocenjena letna incidenca je 1–10/1.000.000 otrok v Evropi in ZDA. Najpogosteje se klinično izraža s povišano telesno temperaturo in hepatosplenomegalijo, opredeljujejo pa jo tudi nekatera odstopanja v laboratorijskih vrednostih, kot sta citopenija in hiperferitinemija (1).

HLH je izredno raznolika skupina motenj imunskega sistema. Delimo jo na primarno (družinsko) (angl. *familiar hemophagocytic lymphohistiocytosis*, FHL) in sekundarno (pridobljeno) obliko. FHL se najpogosteje pojavlja pri otrocih in je povezana z več mutacijami, med katerimi je najpogostejša mutacija gena za perforin. Pridobljena oblika pa je značilna tako za otroke kot tudi za odrasle s pridobljenimi motnjami v delovanju citotoksičnih limfocitov T in naravnih celic ubijalk (angl. *natural killers*, NK). Med sprožilne dejavnike HLH uvrščamo okužbo (predvsem virusno), hematološke malignome (limfom celic T in B, akutna levkemija) in avtoimunske sprožitelje (1).

PATOFIZIOLOGIJA

Običajno celice, ki jih napade pridobljeni imunski sistem, prepoznajo citotoksični limfociti T, ki se vežejo na izpostavljene človeške levkocitne antigene (angl. *human leukocyte antigens*, HLA) I na njihovi površini. Citotoksični limfociti T nato degranulirajo ter izločajo perforin in grancime, poleg tega pa tudi interferon (IFN) γ in druge citokine, pomembne za privabljanje preostalih limfocitov na področje vnetja (2). Perforin je glavna citolitična beljakovina, katere delovanje je povezano z oligomerizacijo, vstavitvijo v membrano tarčne celice in oblikovanjem pore, ki vodi v osmotsko lizo tarčne celice. Poleg tega je perforin potre-

ben za vnos grancimov, ki katalizirajo razgradnjo beljakovin, v tarčno celico, kar sproži njeno apoptozo, s tem pa se odstrani antigenska stimulacija in se sproži umiritev imunskega odgovora (3–5). Podobno vlogo imajo celice NK, ki so sicer del prirojenga imunskega sistema, a imajo tudi funkcijo uravnavanja prek izločanja interleukina (IL) 10, ki prepreči aktivacijo limfocitov T in tako podpira vlogo regulatornih limfocitov T. Omenjeni mehanizmi omogočajo tarčno delovanje, ki prepreči citokinsko nevihto, ki se razvije med HLH (2).

Izguba normalne funkcije celic NK in citotoksičnih limfocitov T vodi v zmanjšan nastanek citotoksičnih granul in njihovo zmanjšano sproščanje v imunološko sinapso (5). Zaradi hiperaktivacije citotoksičnih limfocitov T, povzročene z IL-2, se poveča tudi koncentracija IFN- γ , ki je odgovoren za neposredno aktivacijo makrofagov. Eno izmed možnih prijemališč sodobnega zdravljenja tako predstavljajo protitelesa proti IFN- γ , ki so še v fazi kliničnega preizkušanja. Po drugi strani so nekatere raziskave pokazale, da IFN- γ ni edini odgovorni dejavnik za razvoj HLH, saj se je slednja razvila tudi pri miškah s pomanjkanjem ali inhibicijo IFN- γ (6).

Med gene, katerih raven se v poteku HLH zviša, uvrščamo gene za IL-6, IL-8, IL-10 in IL-17, torej provnetne citokine, ter antiapoptotske gene (7). Posledica značilnega utišanja in izražanja genov je motnja v uravnavanju imunskega odziva in njegovem utišanju, zaradi česar pride do prekomernega razmnoževanja imunskih celic in posledične konstitutivne aktivacije imunskega sistema (8). Motena je tudi s perforinom uravnavana negativna povratna zanka med citotoksičnimi limfociti T in antigen predstavitenimi celicami. Nenormalen imunski odgovor vodi v prekomerno produkcijo citokinov (tj. citokinska nevihta oz. hipercitokinemija), aktivacijo makrofagov ter ne nazadnje poškodbo endotela in mielosupresijo, ki sta posledica limfocitne inva-

zije in vodita v življenje ogrožajoče krvavitve, okužbe in odpoved organov (9).

EPIDEMIOLOGIJA

Prevalenca HLH pri otrocih je ocenjena na 1/100.000 s povprečno starostjo ob diagnozi 1,8 let. Incidenca HLH pri otrocih je ocenjena na 1–255/300.000 živorojenih in se razlikuje glede na geografsko lego. Razlike v pojavnosti med spoloma ni. Na Švedskem je incidenca HLH pri otrocih ocenjena na 1,2/1.000.000 letno, a je najverjetneje podcenjena predvsem na račun drugačnega razumevanja in opredelitve samega sindroma (10).

Pri odraslih se HLH pojavi v srednji starosti 50 let, incidenca pa je ocenjena na 1/2.000 bolnišničnih zdravljenj v terciarnem centru. Razdelitev po spolu kaže, da je nekoliko pogostejša pri moških (63%). Izjema je sindrom aktivacije makrofagov (angl. *macrophage activating syndrome*, MAS), ki se pogosteje pojavlja pri ženskah, kar je najverjetneje povezano z večjo prevalenco avtoimunskih bolezni pri ženskah. Večinoma (65 %) se pojavlja pri belcih, v 13 % pri temnopolnih, 10 % Azijcih in 7 % hispanicah (10).

RAZDELITEV

Večina otrok s FLH ima opredeljene genetske napake, dedovane po Mendlovih zakonih. Večinoma gre za mutacije beljakovin, ki so potrebne za normalno funkcijo citotoksičnih limfocitov T in NK. Odrasla HLH je večinoma sekundarna in je posledica zunanjih dejavnikov. Nedavne raziskave pa so pokazale, da ima približno 15% odraslih bolnikov s HLH genetsko mutacijo, ki je skladna s FHL (10).

Primarna (družinska) oblika hemofagocitne limfohistiocitoze

FHL lahko glede na mutacijo funkcionalne beljakovine razdelimo v pet razredov, genetske nepravilnosti v posameznem podrazredu prikazuje tabela 1 (3). Vse mutacije v sklopu FHL se dedujejo avtosomno recesivno (11).

Prva genetska nepravilnost, ki so jo odkrili v povezavi s FHL, je bila mutacija gena za perforin (*PRF1*), ki se pojavlja pri 58 % FHL (FHL-2). Bolniki, ki se jim klinična slika razvije kasneje v življenju, imajo vsaj minimalno izražanje perforina, medtem ko bolniki s klinično sliko v zgodnjem otroštvu

Tabela 1. Genetske nepravilnosti, povezane s primarno (družinsko) hemofagocitno limfohistiocitozo (3). FHL – primarna (družinska) hemofagocitna limfohistiocitoza (angl. *familiar hemophagocytic lymphohistiocytosis*), CHS – sindrom Chediak-Higashi (angl. *Chédiak-Higashi syndrome*), GS – sindrom Griscelli (angl. *Griscelli syndrome*), XLP – na kromosom X vezana limfoproliferativna bolezen, VT – vezikularni transport, SAP – serumski amiloid P, XIAP – X-vezan zaviralec apoptoze (angl. *X-linked inhibitor of apoptosis protein*).

Podtip FHL	Kromosom	Gen	Funkcija gena	Beljakovina
FHL-1	9q21.3-q22	neznan	neznana	neznana
FHL-2	10q21-22	<i>PRF1</i>	sprožanje apoptoze	perforin
FHL-3	17q25	<i>UNC13D</i>	priprava veziklov	munc13-4
FHL-4	6q24	<i>STX11</i>	VT	syntaxin11
FHL-5	19p12.2-3	<i>STXBP2 (UNC18B)</i>	VT	munc18-2
CHS-1	1q42.1-q42.2	<i>LYST</i>	VT	lyst
GS-2	15q21	<i>RAB27A</i>	VT	rab27a
XLP-1	Xq25	<i>SH2D1A</i>	prenos signala in aktivacija limfocitov	SAP
XLP-2	Xq25	<i>BIRC4</i>	številne signalne poti	XIAP

po navadi v svojih NK ali citotoksičnih limfocitih T perforina sploh nimajo. Do sedaj je bilo opredeljenih že 63 specifičnih mutacij v genu za perforin, od katerih je najpogostejši polimorfizem C272T (A91V), ki se pojavlja v obliki FHL s poznim potekom. Poleg FHL so s HLH povezani tudi nekateri sindromi imunske pomanjkljivosti, vključno s sindromom Chediak-Higashi, sindromom Griscelli in z na kromosom X vezano limfoproliferativno boleznijo (3).

Sekundarna hemofagocitna limfohistiocitoza

S sekundarno HLH so povezana številna stanja, ki jih opisujemo v nadaljevanju. Mednje sodijo virusne okužbe (29%), malignomi (27%), druge okužbe (20%), revmatološke bolezni (7%) in sindromi imunske pomanjkljivosti (6%) (3).

Okužbe

Okužba lahko sproži tako sekundarno HLH kot tudi FLH. Vsi bolniki, ki zadostujejo merilom, bi morali biti testirani za okužbo, vključno z odvzemom hemo- in urinokulture, RTG prsnega koša in aktivnim iskanjem specifičnih okužb: virus Epstein-Barr (angl. *Epstein-Barr virus*, EBV), citomegalovirus, parvovirus B19, HIV in človeški herpes virus (6). HLH je lahko povezana tudi s HIV-povezanimi okužbami, kot sta pnevmocistoza in histoplazmoza (3). Najpogo-

stejše okužbe pri sekundarni hemofagocitni limfohistiocitozi prikazuje tabela 2.

Pomembno je, da razlikujemo med izolirano okužbo z EBV in okužbi z EBV pridruženo HLH. Pri izolirani okužbi vročina sčasoma upade, hepatosplenomegalija pa se postopoma izboljša. Citopenije so redkejše (trombocitopenija v 50%, nevtropenija v 80%) ter blažje in se normalizirajo v štirih tednih po okužbi. Blag hepatitis se razvije v 50–80%, medtem ko so povišane vrednosti jetrnih encimov ponavadi blage in se hitro izboljšajo. V nekaterih primerih pride tudi do zlatenice, medtem ko koagulopatije pri izolirani okužbi praviloma ne najdemo (4).

Po drugi strani so bolniki z okužbo z EBV in pridruženo HLH bolnega izgleda; vročina je huda in se ne ublaži, citopenije pa so življenje ogrožajoče. Bolniki ponavadi potrebujejo transfuzijsko zdravljenje in so prednostno obravnavani zaradi suma na hematološke malignome. Hepatitis ima hujši potek, pogosta je tudi koagulopatija, zaradi prizadetosti jeter pa bolniki neredko potrebujejo presaditev teh. Prisotna je tudi nevrološka prizadetost, ki se kaže kot žariščni ali globalni deficiti, epileptični napadi ali spremenjeno duševno stanje (4).

Malignom

Malignomi so povzročitelj sekundarne HLH v 27%; med najpogostejše uvrščamo hema-

Tabela 2. Najpogostejše okužbe v sklopu sekundarne hemofagocitne limfohistiocitoze (3). HSV – virus herpes simpleks (angl. *herpes simplex virus*), HHV-8 – človeški herpes virus 8 (angl. *human herpes virus 8*), VZV – virus varičele zostra (angl. *varicella zoster virus*), CMV – citomegalovirus, HBV – virus hepatitisa B (angl. *hepatitis B virus*), HCV – virus hepatitisa C (angl. *hepatitis C virus*).

Okužba	
Virusi	adenovirus, parvovirus B19, HSV, HHV-8, VZV, CMV, HBV, HCV, rotavirus, enterovirus, virus coxsackie, virus gripe tipa A, B in C, hantavirus, HIV
Bakterije	<i>Babesia</i> spp., <i>Bartonella</i> spp., <i>Borrelia</i> spp., <i>Brucella</i> spp., <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Leptospira</i> spp., <i>Listeria</i> spp., <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Mycobacterium avium</i> , <i>Mycobacterium bovis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Glive	<i>Candida</i> spp., <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Penicillium marneffeii</i>
Praživali	<i>Leishmania</i> spp., <i>Plasmodium</i> spp., <i>Toxoplasma gondii</i>

tološke malignome (94 %), ki jih delimo glede na tip celic, ki je prizadet (2, 3). Pri otrocih je HLH najpogosteje povezana z akutno levkemijo limfoblastov B, lahko pa nastopi tudi v prvih štirih tednih po presaditvi krvotvornih matičnih celic. Diagnoza te je izredno zapletena, saj klinične in laboratorijske najdbe praviloma sovpadajo s proliferacijo kostnega mozga (3). Pri odraslih je najpogosteje posledica ne-Hodgkinovega limfoma, medtem ko se s Hodgkinovim limfomom pojavi le v 6 % (2, 11). Čvrsti tumorji so redko vzrok sekundarne HLH (3 %) (2).

Avtoimunske bolezni

HLH se najpogosteje pojavi v sklopu sistemskega lupusa eritematozusa, lahko pa nastopi tudi kot resen in pogosto smrten zaplet pri otrocih s sistemskim juvenilnim idiopatskim artritisom ali pri odraslih s Stillovo boleznijo – v tem primeru ga imenujemo MAS. S HLH povezujemo tudi druge revmatske bolezni, kot so poliarteritis nodosa, mešana vezivnotkivna bolezen, pljučna sarkoidoza, sistemska skleroza in Sjögrenov sindrom. V izredno redkih primerih pa lahko nastane kot zaplet družinske mediteranske vročice ali periodičnih vročinskih sindromov, povezanih s kriopirinom (3, 12).

KLINIČNA SLIKA

Ob triadi vztrajajoče visoke vročine, ki se ne odziva na zdravljenje z antibiotiki, patoloških testov jetrne funkcije in citopenije bi morali vedno izključiti HLH. Poleg omenjene triade jo opredeljujejo tudi hepatosplenomegalija, hemofagocitoza v kostnem mozgu, bezgavkah, jetrih ali vranici. V poteku bolezni lahko pride tudi do koagulopatije, plevralnega izliva ali ascitesa ter infiltracije osrednjega živčevja (OŽ). Pogosto opisujejo tudi kožne lezije, podkožne vozličice in pljučne infiltrate, ki so najpogosteje povezani s sekundarno obliko HLH in vključujejo z EBV okužene limfocite B. Z UZ trebuha lahko odkrijemo zadebeljeno steno žolčnika in hiperehogenost periportalnega področja (13).

Vročina je pri dojenčkih, predvsem nedonošenih, pogosto odsotna, poleg tega pa se nevtropenija in porabnostna hipofibrinogenemija s povišanim D-dimerom pri febrilnem bolniku ponavadi pojavita pozno v poteku bolezni in predstavljata znak alarma. Število trombocitov se dobro odzove na zdravljenje in skupaj s feritinom predstavlja napovedni dejavnik za ozdravitev (11).

Prizadetost osrednjega živčevja

Do prizadetosti OŽ pride pri 37–73 % otrok in se kaže s simptomi, ki so v tretjini primerov prisotni ob diagnozi: zmanjšana stopnja zavesti, meningealni znaki, pareza možganskih živcev in epileptični napadi (11, 14). V likvorju najdemo pleocitozo v 10–47 % primerov, povišane vrednosti beljakovin pa v 11–41 %, vendar so slednje ponavadi le blago povišane (500–1.000 mg/l). Nobena raziskava še ni dokazala povezanosti izida bolezni s koncentracijo beljakovin v likvorju. Imajo pa praviloma bolniki z nevrološko simptomatiko in patološkimi najdbami v likvorju slabšo napoved izida bolezni (petletno preživetje 40 % namesto 67 %) (15). MRI glave nam pokaže polimorfne, multilobalne in obojestranske lezije, najpogosteje periventrikularno in redkeje v talamusu in bazalnih jedrih (13).

Diferencialna diagnoza je v primeru prizadetosti OŽ izredno široka in vključuje akutni diseminirani encefalomyelitis, akutno nekrotizirajočo encefalopatijo, vaskulitis OŽ, multiplo sklerozo, encefalitis, nevrološko manifestacijo revmatološke bolezni (npr. sistemskega eritematoznega lupusa) in genetsko pogojene vnetne bolezni OŽ (npr. interferonopatije) (15).

DIAGNOSTIČNA MERILA

Prva merila za diagnozo HLH so bila objavljena leta 1991 in so temeljila na kliničnih in laboratorijskih najdbah pri švedskih otrocih, mlajših od 15 let, ki so imeli FHL. Prvotna merila so vključevala (1):

- vročino (vsaj sedem dni, vrhovi $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$),

- splenomegalijo (vsaj 3 cm pod rebrnim lokom),
- citopenijo (vsaj dve izmed anemije, nev-tropenije in trombocitopenije),
- hipertrigliceridemijo (≥ 2 mmol/l) in/ali hipofibrinogenemijo (≤ 150 mg/dl) in
- hemofagocitozo v kostnem mozgu, vranici ali bezgavkah.

Tri leta kasneje je ista skupina objavila protokol zdravljenja (HLH-94) za FHL s kombinirano kemo- in imunoterapijo. V nadaljevanju so ga razširili še s presaditvijo kostnega mozga, ki je doprinesla k boljšemu preživetju otrok s FHL. Desetletje kasneje je bil razvit nov protokol (HLH-2004) z razširjenimi diagnostičnimi merili in shemo zdravljenja (etopozid, deksametazon, ciklosporin in intratekalni metotreksat). HLH-2004 je ohranil vseh pet meril iz leta 1991 in dodal tri nova (1):

- povišan serumski feritin (≥ 500 $\mu\text{g/l}$),
- topni receptor za interlevkin 2 (angl. *soluble interleukin-2 receptor*, sIL-2-R) ≥ 2.400 IE/ml in
- znižana ali odsotna aktivnost NK.

Izmed osmih meril jih mora biti za diagnozo potrjenih vsaj pet. Ne glede na preostala diagnostična merila lahko diagnozo FLH potrdimo zgolj z molekularno diagnostiko, ki je skladna s HLH. Poleg omenjenih diagnostičnih meril so pogoste ($> 80\%$ bolnikov) najdbe tudi hipoalbuminemija, zvišani jetrni encimi in koagulopatija (1).

Od feritina občutljivejši označevalec HLH je urinski β_2 -mikroglobulin (U- β_2 MG), ki pa ni vključen v nobena diagnostična merila. Mikroglobulin β_2 je molekula razreda HLA I in se izraža v primeru povečanega izločanja IFN- γ . Zgornja meja U- β_2 MG je manj kot 200 $\mu\text{g/g}$ kreatinina pri zdravih odraslih, pri bolnikih s HLH pa lahko naraste tudi do 10.000 $\mu\text{g/g}$ kreatinina. Pri otrocih so mejne vrednosti drugačne, normalne vrednosti U- β_2 MG pa so bistveno višje: pri dvomesečnih otrocih je zgornja meja

U- β_2 MG nekaj 1.000, pri trimesečnih otrocih pa več 100 $\mu\text{g/g}$ kreatinina (9).

Revmatologi so za HLH v sklopu sistemskega juvenilnega idiopatskega artritisa razvili svoja merila, pri katerih mora imeti bolnik poleg povišane telesne temperature in znanega ali sumljenega juvenilnega idiopatskega artritisa tudi (16):

- hiperferitinemijo (> 684 $\mu\text{g/l}$) in
- vsaj dve izmed sledečih meril:
 - trombocitopenija ($\leq 181 \times 10^9/l$),
 - povišane vrednosti aspartat transaminaze (> 48 IE/l),
 - hipertrigliceridemija (> 156 mg/dl oz. 1,76 mmol/l) ali
 - hipofibrinogenemija ($\leq 3,6$ g/l).

Poleg omenjenih diagnostičnih meril obstajajo tudi specifični testi, predstavljeni v nadaljevanju, ki v primeru negotovosti bistveno prispevajo k diagnozi HLH (17).

Pretočna citometrija

Z uporabo pretočne citometrije merimo izražanje perforina/grancima B in s signalizacijo limfocitne aktivacijske molekule povezanih beljakovin (angl. *signaling lymphocytic activation molecule (SLAM)-associated protein*, SAP) na površini celic in znotrajcelično izražanje X-vezanega zaviralca apoptoze (angl. *X-linked inhibitor of apoptosis protein*, XIAP). Določitev SAP in XIAP je izrednega pomena pri hitri diagnozi moških z omenjenima FLH (17).

Funkcija naravnih celic ubijalk

Celice NK, pridobljene iz periferne krvi, testiramo na sposobnost lize s kromom obremenjenih tarčnih celic. V primeru aktivne HLH je funkcionalnost aktivnih NK ponavadi oslABLJENA (17).

CD107a

Kadar stimuliramo citotoksične limfocite T in NK, ti sprožijo eksocitozo mešičkov in izpostavijo CD (angl. *cluster of differentiation*) 107a na svoji površini. Slednjega lahko

zaznamo s pomočjo pretočne citometrije. V primeru, da NK niso sposobne degranulacije zaradi intrinzične motnje v citotoksični poti, ne pride do izpostavitve CD107a na njihovi površini. Test je negativen v primeru pomanjkanja perforina (pri FHL-2), XLP in pri sekundarni HLH (17).

ZDRAVLJENJE

V zdravljenje HLH vključujemo imunosupresijska in imunomodulatorna zdravila, modifikatorje biološkega odgovora, zdravljenje vzroka sekundarne HLH in presaditev krvotvornih matičnih celic. Cilj zdravljenja je zavreti prekomerno vnetje in moteno uravnavanje imunskega sistema, ki nezdravljeno vodi v življenje ogrožajočo poškodbo organov in dovzetnost za smrtonosne okužbe (13).

Med podporno zdravljenje uvrščamo (18):

- ustrezno širokospektralno antibiotično zdravljenje, dokler niso na voljo rezultati odvzetih kultur,
- profilakso s trimetoprim/sulfametoksazolom (dva- do trikrat tedensko),
- peroralni antimikotik med indukcijskim zdravljenjem,
- antivirusno zdravljenje v primeru sočasno potekajoče virusne okužbe ter
- intravenske imunoglobuline (0,5 g/kg iv.) vsake štiri tedne med indukcijskim in nadaljevalnim zdravljenjem.

Indukcijsko zdravljenje

Indukcijsko zdravljenje obsega osem tednov zdravljenja in vključuje etopozid, deksametazon in ciklosporin A (CSA). Pri bolnikih s prizadetostjo OŽ je potrebno tudi intratekalno zdravljenje. Odmerki so preračunani na m^2 tudi pri otrocih, lažjih od 10 kg (18).

Etopozid

V prvih dveh tednih ga vnašamo 150 mg/ m^2 intravensko dvakrat tedensko. V primeru, da je kostni mozeg hipocelularen in število

levkocitov manjše od $0,5 \times 10^9/l$, lahko vnos etopozida v prvih dveh tednih opustimo. V naslednjih šestih tednih ga v enaki dozi (150 mg/ m^2 iv.) vnašamo enkrat tedensko. Njegovi neželeni učinki vključujejo mielosupresijo (levkopenija, trombocitopenija), hipotenzijo v primeru prehitre infuzije, poškodbo jeter, slabost, bruhanje, vročino, glavobol, bolečine v trebuhu, drisko, anoreksijo, alopecijo in alergijske reakcije, izjemno redko pa tudi sekundarne malignome (levkemija, mielodisplastični sindrom) (18).

Deksametazon

V prvih dveh tednih ga vnašamo 10 mg/ m^2 /dan, nato ga na dva tedna nižamo na polovico prejšnje doze (od tretjega do četrtega tedna 5 mg/ m^2 /dan, od petega do šestega tedna 2,5 mg/ m^2 /dan in v sedmem tednu 1,25 mg/ m^2 /dan). V osmem tednu zdravljenja z deksametazonom ukinemo. Svetovana je sočasna zaščita želodčne sluznice z ranitidinom ali drugimi gastroprotektivnimi učinkovinami. Med neželenimi učinki so najpomembnejši povečan apetit, centripetalna debelost, zadrževanje tekočin, hiperlikemija, imunosupresija, miopatija, osteoporoza, aseptična nekroza, peptični ulkus, vnetje trebušne slinavke, mentalna spremenjenost, katarakta, povišan krvni tlak, upočasnjena rast, amenoreja, slabše celjenje ran in atrofija podkožja (18).

Ciklosporin A

Doza je odvisna od koncentracije CSA v krvi, ciljna vrednost znaša okoli 200 $\mu g/l$. Začetna doza v prvem tednu je v primeru normalnega ledvičnega delovanja 6 mg/kg/dan, ki jo praviloma razdelimo v dva odmerka. Izmed neželenih učinkov so najpogosteje opisani nefrotoksičnost, povišan krvni tlak, hipertrihoza, slabost, bruhanje, anoreksija, hiperplazija dlesni, jetrna disfunkcija s povišanimi transaminazami in bilirubinom, tremor, hipomagneziemija, utrujenost, parestezije itd. (18).

Intratekalna injekcija metotreksata in prednizolona

Likvor pregledamo ob diagnozi in dva tedna po začetku zdravljenja. Kadar po dveh tednih ugotovimo klinične dokaze za napredujočo nevrološko simptomatiko ali se rezultati likvorske analize (število celic in beljakovin) niso izboljšali, začnemo s štiritedenskim intratekalnim zdravljenjem. Pri tem moramo biti pozorni na bolnike s povišanim znotrajboljanskim tlakom. Doza metotreksata znaša 6 mg pri mlajših od enega leta, 8 mg pri starosti od enega do dveh let, 10 mg pri starosti od dveh do treh let in 12 mg pri starejših od treh let. Prednizolon z enakim ozirom na starost odmerjamo po 4, 6, 8 in 10 mg (18).

Nadaljevalno zdravljenje

Z nadaljevalnim zdravljenjem nadaljujemo do vključno 40. tedna po začetku indukcijskega zdravljenja. Njegov namen je ohranjanje bolnika v remisiji. Pri nekaterih otrocih se bolezen v tem času poslabša, zato je potrebno povišati odmerke in poostri shemo zdravljenja. Pri bolnikih s sekundarno HLH se za nadaljevalno zdravljenje odločimo le v primeru, da indukcijsko zdravljenje ni ozdravilo bolezni. Nadaljevalno zdravljenje vključuje (18):

- etopozid (150 mg/m² iv. vsak drugi teden),
- deksametazon (10 mg/m² tridnevni pulzi vsak drugi teden) in
- CSA (ciljna vrednost v krvi je 200 µg/l, treba je spremljati ledvično funkcijo).

Presaditev krvotvornih matičnih celic

Edino pravo možnost ozdravitve v primeru FLH predstavlja alogenska presaditev krvotvornih matičnih celic. Glavno težavo predstavlja iskanje sprejemljivega darovalca in ohranjanje bolnika živega, dokler presaditve ne izvedemo. Slednjo izvajamo v oknu, ko bolezen ni aktivna (18). Druge indikacije za presaditev krvotvornih matičnih celic so tudi hematološki maligno-

mi, ki so povzročili sekundarno HLH, in prizadetost OŽ (19). V primeru sekundarne HLH jo po osemtedenskem zdravljenju in resoluciji opravimo le v primeru reaktivacije bolezni (18).

Pred presaditvijo matičnih celic je potrebna mielo- ali nemieloablativna priprava z zdravili. Zaradi možnosti razvoja reakcije presadka proti gostitelju uvedemo CSA, ki ga ukinemo po šestih mesecih, v kombinaciji z metotreksatom (1., 3., 6. in 11. dan) ali mikofenolat mofetilom prvih 28 dni po presaditvi v primeru oslABLJENE jetrne funkcije (20).

Številne raziskave so dokazale povečano umrljivost ob uporabi mieloablativnih shem zdravljenja (angl. *myeloablative conditioning*, MAC), zato se novejša raziskava osredotočajo na prednosti shem z zmanjšano intenziteto zdravljenja (angl. *reduced-intensity conditioning*, RIC). Slednje imajo manjšo toksičnost, a večajo verjetnost za razvoj mešanega himerizma (21). Tveganje za mešani himerizem je odvisno od bolezni, izvora matičnih celic in sheme zdravljenja z alemtuzumabom. Obstajajo raziskave, ki nakazujejo, da je zadostna že vsaditev 10–20 % celic, ki izražajo perforin, da se prepreči razvoj HLH. Po drugi strani naj bi v 20–30 % himerizem deloval zaščitno pred pozno reaktivacijo, kar dodatno podpira domnevo, da je shema RIC v primerjavi s shemo MAC primernejši pristop k alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic (22).

Tarčna zdravila

Obstaja omejeno število primerov refraktarnih HLH, ki so bile uspešno zdravljene z infliksimabom, anakinro, alemtuzumabom in daklizumabom, trenutno pa še potekajo raziskave o uporabi zdravil proti IFN-γ (23).

Ruksolitinib je zaviralec Janusove kinaze (JAK) 1 in JAK2, ki ju aktivirajo citokini, še posebej IFN-γ, IL-2 in IL-6, ki so glavni mediatorji vnetja v patofiziologiji HLH. Omenjeni citokini se vežejo na receptorje JAK in aktivirajo transkripcijske dejavnike

družine STAT (angl. *signal transducer and activator of transcription*), kar vodi v prepis tarčnih genov, odgovornih za vnetje. Blokada opisane poti zmanjša citokinsko signalizacijo in vnetje. Ruksolitinib je že registriran za zdravljenje policitemije rubre vere in mielofibroze pri odraslih. Nedavne raziskave pa so odkrile, da zmanjša simptome pri številnih provnetnih boleznih, kot so revmatoidni artritis, ulcerozni kolitis, mielo-proliferativne bolezni, luskavica in bolezen presadka proti gostitelju, kaže pa tudi potencial za zdravljenje sekundarne HLH (23).

NAPOVED IZIDA BOLEZNI

Brez zdravljenja HLH preživi le 5 % bolnikov, srednje preživetje znaša dva meseca. Z novejšimi kemoterapevtskimi shemami in protokoli se je preživetje zvišalo na 54 %, vendar ostane v 28 % bolezen klinično pomembna, 19 % bolnikov pa ima celo pozne nevrološke zaplete (24). Med ugodne dejavnike za napoved izida bolezni uvrščamo FHL,

nižjo starost (< 50 let), krajši čas do začetka zdravljenja, padec povišane telesne temperature po treh dneh od diagnoze, nizke vrednosti histiocitov v kostnem mozgu, višje vrednosti fibrinogena ter odsotnost diseminirane intravaskularne koagulacije ali kate-re koli druge koagulopatije (25).

ZAKLJUČEK

HLH je redek, vendar življenje ogrožajoč klinični sindrom, ki je zaradi prekrivajočih se bolezenskih stanj in neznačilne klinične slike pogosto spregledan. Nanj moramo pomisliti ob vztrajajoči vročini, ki se ne izboljša po uvedbi antibiotika, hepatosplenomegaliji in citopeniji, še posebej ko omenjeno triado spremljajo okužba, malignom ali avtoimunska bolezen. Z boljšim razumevanjem patogeneze HLH se razvijajo tako specifični diagnostični testi kot tudi nova, predvsem tarčna zdravila, s čimer se viša ne samo delež preživelih, ampak tudi tistih s povrnjeno kakovostjo življenja.

LITERATURA

1. Otrock ZK, Daver N, Kantarjian HM, et al. Diagnostic challenges of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017; 17(5): S105–S110.
2. Vick EJ, Patel K, Prouet P, et al. Proliferation through activation: hemophagocytic lymphohistiocytosis in hematologic malignancy. *Blood Adv*. 2017; 1 (12): 779–91.
3. George MR. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: review of etiologies and management. *J Blood Med*. 2014; 5: 69–86.
4. Marsh RA. Epstein-Barr virus and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Front Immunol*. 2018; 8: 1902.
5. Rosado FG, Kim AS. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on diagnosis and pathogenesis. *Am J Clin Pathol*. 2013; 139 (6): 713–27.
6. Brisse E, Wouters CH, Andrei G, et al. How viruses contribute to the pathogenesis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Front Immunol*. 2017; 8: 1102.
7. Filipovich AH, Chandrakasan S. Pathogenesis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2015; 29 (5): 895–902.
8. Lovisari F, Terzi V, Lippi MG, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis complicated by multiorgan failure: a case report. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96 (50): e9198.
9. Morimoto A, Nakazawa Y, Ishii E. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: pathogenesis, diagnosis, and management. *Pediatr Int*. 2016; 58 (9): 817–25.
10. Al-Samkari H, Berliner N. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Annu Rev Pathol*. 2018; 13: 27–49.
11. Janka GE, Lehmborg K. Hemophagocytic syndromes – an update. *Blood Rev*. 2014; 28 (4): 135–42.
12. Sepulveda FE, de Saint Basile G. Hemophagocytic syndrome: primary forms and predisposing conditions. *Curr Opin Immunol*. 2017; 49: 20–6.
13. Imashuku S. Clinical features and treatment strategies of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2002; 44 (3): 259–72.
14. Wysocki CA. Comparing hemophagocytic lymphohistiocytosis in pediatric and adult patients. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2017; 17 (6): 405–13.
15. Horne A, Wickström R, Jordan MB, et al. How to treat involvement of the central nervous system in hemophagocytic lymphohistiocytosis? *Curr Treat Options Neurol*. 2017; 19 (1): 3.
16. Sen ES, Steward CG, Ramanan AV. Diagnosing hemophagocytic syndrome. *Arch Dis Child*. 2017; 102 (3): 279–84.
17. Degar B. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2015; 29 (5): 903–13.
18. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Study Group. HLH-2004. Stockholm: Histiocyte Society; 2004.
19. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, et al. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2011; 118 (15): 4041–52.
20. Seo JJ. Hematopoietic cell transplantation for hemophagocytic lymphohistiocytosis: recent advances and controversies. *Blood Res*. 2015; 50 (3): 131–9.
21. La Rosée P. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2015; 2015 (1): 190–6.
22. Wang Y, Wang Z. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Curr Opin Hematol*. 2017; 24 (1): 54–8.
23. Broglie L, Pommert L, Rao S, et al. Ruxolitinib for treatment of refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood Adv*. 2017; 1 (19): 1533–6.
24. Queiroz AF, Benevides GN, Fernandes ICOF, et al. Hemophagocytic syndrome: a dilemma chasing the intensivists. *Autops Case Rep*. 2015; 5 (1): 11–9.
25. Akenroye AT, Madan N, Mohammadi F, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis mimics many common conditions: case series and review of literature. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2017; 49 (1): 31–41.

Maja Badovinac¹, Barbara Salobir², Marjeta Terčelj-Zorman³

Pljučna histiocitoza Langerhansovih celic in pasivno kajenje – pregled literature in klinični primer

*Pulmonary Langerhans Cell Histiocytosis and passive smoking:
a Review and a Case Report*

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: histiocitoza X, redka pljučna intersticijska bolezen, bolezen kadilcev, pasivno kajenje, pljučna transplantacija

Pljučna histiocitoza Langerhansovih celic ali histiocitoza X je redka intersticijska bolezen pljuč, ki primarno prizadene mlade odrasle in je etiopatogenetsko povezana s kajenjem. Zaradi nepopravljive napredujoče dinamike pljučnih sprememb je dobro, da smo z boleznijo seznanjeni. Pljučna histiocitoza Langerhansovih celic je skoraj izključno bolezen kadilcev ali bivših kadilcev. Snovi v cigaretnem dimu naj bi vplivale na patogenezo nastanka bolezni, čeprav dejavniki tveganja do sedaj še niso bili natančno pojasnjeni. V članku želimo predstaviti to redko bolezen kadilcev in prikazati, kako pomembno lahko vpliva cigaretni dim na pojav bolezni tudi v primeru pasivnega kajenja. Predstavljamo klinični primer nekadilke, ki je bolezen razvila, kljub temu da ni nikoli aktivno kadila. Vse življenje je bila kot pasivna kadilka izpostavljena cigaretnemu dimu. Morda je bilo to dovolj, da se je razvila bolezen, ki je sicer značilna za kadilce. Prikazali bomo, da je za zamejitev bolezni ključno popolnoma izključiti izpostavljenost cigaretnemu dimu iz življenja posameznika.

ABSTRACT

KEY WORDS: histiocytosis X, rare pulmonary interstitial disease, smoker's disease, second-hand smoker, lung transplantation

Pulmonary Langerhans cell histiocytosis or histiocytosis X is a rare interstitial lung disease. It is predominately seen in young adults, with smokers being almost exclusively affected. The clinical course of pulmonary Langerhans cell histiocytosis is progressive and irreversible. Pathogenesis is promoted by cigarette smoke and certain substances found in it. Nonetheless, the exact mechanism of disease development remains unclear. This paper aims to present this rare interstitial lung disease. We stress the impact of cigarette smoke, even when passively exposed to it, on the pathogenesis of the disease.

¹ Maja Badovinac, dr. med., Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; badovinac.maja1@gmail.com

² Doc. dr. Barbara Salobir, dr. med., Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

³ Prof. dr. Marjeta Terčelj-Zorman, dr. med., Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

Such was the case of our patient who never smoked but was constantly exposed to cigarette smoke as a passive smoker. This could have been a triggering and the most important factor of her disease development. Our aim is to show that only a complete exclusion of the patient from the causative environment and cigarette smoke may lead to complete remission.

UVOD

Pljučna histiocitoza Langerhansovih celic (PHLC) ali histiocitoza X je redka intersticijska bolezen pljuč, povezana z vnetjem malih dihalnih poti in drobnih žil. PHLC se najpogosteje pojavlja pri beli rasi v severni Evropi in primarno prizadene mlade odrasle, čeprav se lahko pojavi v kateri koli starostni skupini (1, 2).

PHLC je običajno omejena na pljuča, izven pljuč pa so lezije najpogosteje v kosteh, koži, nevrohipofizi in jetrih ter so prisotne pri 15 % vseh obolelih (3–5). Pri bolnikih z multisistemsko obliko bolezni je tveganje za zgodnejšo smrt precej večje (3).

Domneva se, da ima kajenje pri nastanku PHLC ključno vlogo, saj so skoraj vsi oboleli aktivni kadilci ali pa so kadili v preteklosti. Do sedaj drugih dejavnikov tveganja ali genetskih posebnosti, ki so vpleteni v razvoj bolezni, ni bilo prepoznanih (3).

PATOHISTOLOGIJA

Patohistološko je histiocitoza klonska delitev imunofenotipskih in funkcionalno nezrelih okroglih Langerhansovih celic. Te so posebna skupina dendritičnih celic, ki se prve povežejo z zunanjim antigenom, v primeru PHLC s cigarettnim dimom. Histiocitoza Langerhansovih celic je posledica monoklonske delitve teh celic, PHLC pa bi lahko bila posledica reaktivnega poliklonskega, vnetnega procesa, spodbujenega z dejavniki v cigarettnem dimu (4, 6). Pri PHLC se Langerhansove celice značilno pojavljajo v skupkih in številčno izrazito presežejo tiste, vidne pri drugih pljučnih boleznih. Ob tem kvantitativne smernice za diagnozo PHLC še niso bile določene (7).

KLINIČNA SLIKA IN DIAGNOSTIKA

Za PHLC najpogosteje zbolijo osebe starosti 20–40 let. Bolezen je v zgodnjem obdobju običajno asimptomatska, čeprav so spremembe v pljučnem parenhimu lahko zgodaj vidne s slikovno diagnostiko. Z napredovanjem bolezni bolnik razvije nespecifične simptome, kot so suh, neproduktiven kašelj, napredujoča dispneja ob naporu, utrujenost ali prsna bolečina. Te se pogosto napačno pripiše neposrednim posledicam zaradi kajenja. Pri 10–25 % obolelih se PHLC izrazi z bolečino v prsah zaradi spontanega pnevmotoraksa, ki se lahko tudi ponavlja ali nastane obojestransko, kljub temu da so spremembe na slikovni diagnostiki takrat še minimalne. Pri nadaljnjem napredovanju bolezni se bolnikom zniža telesna masa, imajo povišano telesno temperaturo, spremljano s potenjem (6, 8). Zaradi razpršene napredujoče pljučne prizadetosti in sprememb v pljučnem parenhimu se lahko razvije huda pljučna hipertenzija in kronično pljučno srce (4). Klinični pregled je običajno brez posebnosti in/ali brez kliničnih znakov pljučne prizadetosti (3).

Nasprotno pa testi pljučne funkcije neenotno odstopajo od normale pri več kot 80 % vseh bolnikov (4). Najpogostejša motnja, ki se pojavlja pri vsaj dveh tretjinah vseh bolnikov, je zmanjšana difuzijska kapaciteta pljuč za ogljikov monoksid (angl. *diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide*, DL_{CO}). Prisotna je lahko samo restriktivna, samo obstruktivna, najpogosteje pa mešana restriktivno-obstruktivna motnja dihanja (9). Rezultati pljučne funkcije pri PHLC ne sovpadajo z rezultati okvar malih dihalnih poti zaradi kajenja (4). Uporab-

nost RTG kot slikovne diagnostike je omejena, saj so začetne spremembe v pljučnem parenhimu za to preiskavo nezaznavne (6). Bolj poveden je CT prsnih organov, kjer so vidni mikronoduli, ciste in parenhimski infiltrati. Spremembe so običajno intenzivnejše v srednjem in zgornjem režnju pljuč. Minimalne spremembe ali pa normalna slika je navadno prisotna v plevralnih kostodifragmalnih sinusih ter linguli levega zgornjega režnja pljuč (10, 11). Bronhoskopsko so dihalne poti videti normalne (12). V bronhoalveolarnem izpirku (angl. *bronchoalveolar lavage*, BAL), ki je za to bolezen lahko diagnostičen, je poleg številnih Langerhansovih celic zvišana tudi koncentracija beljakovine CD (angl. *cluster of differentiation*) 1a, langerina in beljakovine S-100, ki se izraža v citoplazmi (9). Za diagnozo je močno sumljiva najdba vsaj 5% Langerhansovih celic s prisotno beljakovino CD1a v BAL, vendar nižji odstotek boleznine ne more izključiti (13). V nejasnih primerih je zato ključen dokaz pljučnih nodulov. Včasih za pridobitev ustreznih histoloških vzorcev zato ne zadostuje transbronhialna biopsija pljuč med bronhoskopijo in je potrebna odprta kirurška pljučna biopsija. Histološko so značilne zgodnje vnetne lezije, ki vsebujejo skupke eozinofilnih granulocitov, limfocitov in nevtrofilnih granulocitov ter obkrožajo manjše bronhiole, ki izoblikujejo značilne t. i. zvezdaste lezije. Ko bolezen napreduje, v pljučih nastajajo male ciste in intersticijska fibroza, kar lahko v napredovalem obdobju privede do končne pljučne odpovedi (6, 14, 15).

ZDRAVLJENJE

Bolezen zdravimo z glukokortikoidi (GK) peroralno, vsem bolnikom pa se svetuje takojšnje prenehanje kajenja, ki pri večini bolnikov z blažjim potekom PHLC mogoča popolno regresijo (6, 10). S predstavitvijo kliničnega primera poudarjamo, da je treba vedno preveriti, ali bolnik nekadilec prihaja v stik s cigaretним dimom v svojem živ-

ljenjskem okolju, in izvesti vse ukrepe za popolno izključitev izpostavljenosti cigaretne dimu iz življenja posameznika. To je ključni ukrep, saj je sicer zdravljenje z GK le redko učinkovito. Tudi z drugimi zdravili, ki delujejo na zaviranje imunskega sistema, večinoma ne dosežemo zadostnega izboljšanja (4). Pogosto bolezen napreduje do te stopnje, da je edina preostala možnost presaditev pljuč, vendar se lahko tudi po presaditvi bolezen iz doslej še neznanih razlogov ponovi. V primeru pljučne hipertenzije lahko na bolezen ugodno vpliva uvedba sildenafilu zaradi njegovega vazodilatativnega in remodelacijskega učinka na pljučno žilje, vendar za to še ni trdnih dokazov. Ta zaustavlja razvoj pljučne hipertenzije zaradi boleznine in predstavlja pomemben terapevtski most do presaditve pljuč (če niso prisotne druge pomembne kontraindikacije) (16).

KLINIČNI PRIMER

Februarja 2004 je bila 55-letna bolnica obravnavana zaradi suma na pljučno embolijo zaradi dispneje že ob manjšem naporu. V dveh letih pred pregledom se je dispneja izrazito poslabševala med naporom, dvakrat je kolabirala. Nikoli ni kadila. Sicer se je zdravila za astmo, arterijsko hipertenzijo, hiperlipidemijo in hipotiroidizmom po resekciji golše. V letih razvoja dispneje se njeno zdravljenje ni spreminjalo. Pri kliničnem pregledu je bila evpnoična z znaki periferne in centralne cianoze, nasičenost hemoglobina brez dodanega kisika je bila 88 %, arterijski tlak je bil 170/100 mmHg. Drugih odstopanj, razen že prisotnih boleznine, ni bilo. Plinska analiza arterijske krvi je pokazala hipoksemično kompenzirano respiratorno alkalozo. Osnovne laboratorijske preiskave so bile v mejah normalnega. Testi pljučne funkcije so pokazali močno znižano DL_{CO} brez obstrukcije (tabela 1). Opravljen je bil RTG prsnega koša (slika 1, tabela 1). Z ventilacijsko-perfuzijsko scintigrafijo je bila pljučna embolija izključena, na CT

Tabela 1. Klinični potek bolnice s pljučno histiocitozo Langerhansovih celic. FVC – funkcionalna vitalna kapaciteta (angl. *forced volume vital capacity*), FEV₁ – forsirani ekspiratorni volumen v prvi sekundi, Tiff – Tiffenaujev indeks (FEV₁/FVC %), DL_{CO} – difuzna kapaciteta pljuč za ogljikov monoksid (angl. *diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide*), PK – prsni koš.

Leto obravnave	2004 (prvi obisk)	2007 (prva epizoda poslabšanja)	2012 (pnevmotoraks)	2013 (pnevmotoraks)
Simptomi in klinični znaki	<ul style="list-style-type: none"> • dispneja ob naporu 	<ul style="list-style-type: none"> • hitra zadihanost • utrujenost preko celega dne 	<ul style="list-style-type: none"> • bolečina na levi strani PK 	<ul style="list-style-type: none"> • oslabelost • bolečina na levi strani PK • padec nasičenosti hemoglobina
Testi pljučne funkcije	<ul style="list-style-type: none"> • FVC 100 % • FEV₁ 94 % • Tiff 68 • DL_{CO} 37 % 	<ul style="list-style-type: none"> • ni podatka 	<ul style="list-style-type: none"> • FVC 130 % • FEV₁ 96 % • Tiff 62 	<ul style="list-style-type: none"> • ni podatka
Zdravljenje	<ul style="list-style-type: none"> • glukokortikoidi 	<ul style="list-style-type: none"> • sildenafil • podporno zdravljenje desnostranskega srčnega popuščanja 	<ul style="list-style-type: none"> • kemična plevrodeza • trajno zdravljenje s kisikom na domu 	<ul style="list-style-type: none"> • kirurška plevrodeza

so bile vidne spremembe v pljučnem parenhimu, najverjetneje v sklopu emfizema, limfangiomatoze in PHLC pa se ni dalo zanesljivo izključiti (slika 2). Bolnica je bila za potrditev napotena na odprto pljučno biopsijo. V vzorcu pljuč, odvzetem s tehniko VATS (angl. *video assisted thoroscopic surgery*), so bile vidne nenavadne intersticijske spremembe v pljučnem parenhimu z nenavadno histološko sliko, ki so bile po obliki in sestavi najbolj značilne za PHLC. Dodatno opravljeni serološki testi za sistemske bolezni veziva so bili negativni, prav tako serološke preiskave za potrditev farmarskih pljuč, specifični imunoglobulini (Ig) G in IgE za glive, izključena je bila tudi okužba z glivami. Skladno z delovno diagnozo je bilo uvedeno zdravljenje z GK.

Šele ko je bila s kirurško resekcijo histološko potrjena PHLC pri nekadilki, je bila bolnica podrobno povprašana o pasivnem kajenju. Potrdila je, da so bili njeni starši, kasneje sodelavci v pisarni ter mož strastni kadilci in je bila tako večino svojega življenja izpostavljena intenzivnemu pasivnemu kajenju.

Po postavitvi diagnoze in uvedbi zdravljenja je bila do leta 2007 bolnica stabilna, nato pa so se pričeli pojavljati napadi dispneje in omotice, čeprav s preiskavami objektivnega poslabšanja ni bilo moč potrditi. Predstavljena je bila možnost presaditve pljuč. Kirurgi so menili, da je zaradi prekomerne telesne mase in tveganja za pooperativne zaplete poseg preveč tvegan, in so bolnico zavrnili. Svetovano ji je bilo, da se



Slika 1. RTG prsnega koša leta 2004. Vidno je povečano srce in blage razpršene nespetsificne intersticijske spremembe.

nikoli več ne zadržuje v prostorih kot pasivna kadiilka ter zmanjša telesno maso za boljši potek bolezni in pripravo na morebitno presaditev pljuč. Zaradi pojava pljučne arterijske hipertenzije in desnostranskega srčnega popuščanja je bil poleg podpornega zdravljenja uveden sildenafil. V enem letu je uspela izgubiti 15 kg telesne mase, stiku s cigaretним dimom se je popolnoma izogibala, preselila se je v čistejšo okolje, na podeželje in jemala vsa predpisana zdravila. Subjektivno se ji je klinično stanje izrazilo izboljšalo, popravil se je tudi šestminutni test hoje. Slikovne preiskave so potrdile stagnacijo bolezni. Ob vseh teh izboljšanjih je bila presaditev pljuč časovno odložena, kasneje pa se bolnica zanjo ob možnih tveganjih za zaplete in možnosti, da se bolezen v pljučih po presaditvi ponovi, ni več odločila.

Bolnica je bila brez dodatnega zdravljenja stabilna naslednjih pet let do leta 2012, ko je ob nenadni bolečini v prsih doživela spontani pnevmotoraks. Ob tem je prišlo do dihalnega popuščanja, ki pa se je popolnoma popravil po plevrodezi s talkom. Leto

pozneje se je pnevmotoraks ponovil na isti strani, tokrat je bil popolni. Zdravljen je bil s kirurško plevrodezo, po posegu pa si bolnica ni več popolnoma opomogla. Dispneja je bila prisotna že v mirovanju, ob manjših fizičnih naporih je nasičenost kisika v periferni krvi padla pod 75 %, doma je potrebovala dodatek kisika v vdihanem zraku (slika 3). Kljub še vedno relativno dobri kakovosti življenja se je njeno klinično stanje postopno slabšalo vse do leta 2016, ko je bila sprejeta na oddelek za intenzivno nego, kjer je tudi umrla. Bolnica je umrla v starosti 67 let zaradi poslabšanja kronične dihalne odpovedi ob akutni ledvični odpovedi, 13 let po postavitvi diagnoze.

Histološki izvid

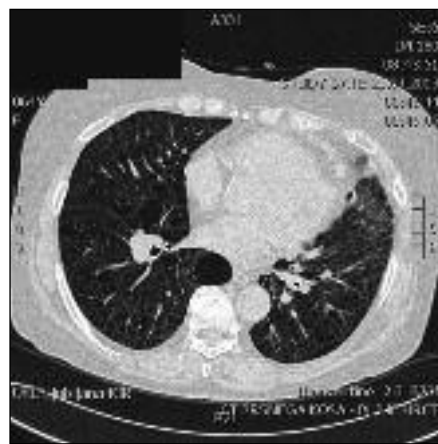
Histološki izvid je prepis izvida, ki ga je napisal prof. dr. Tomaž Rott, dr. med. (št. vzorca: PB-00133/04, 20. 2. 2004).

Mikroskopski opis

Preustrojeno pljučno tkivo s pretežno intersticijsko lokaliziranimi spremembami. V intersticiju so neredno razsejani mešano-



Slika 2. CT prsnega koša leta 2004. Prepričljivih embolov v pljučnih arterijah ni videti. V pljučih so številne razpršene svetline, zlasti v zgornjih režnjih. Po videzu najverjetneje emfizem, limfangiomatoze in pljučne histiocitose Langerhansovih celic pa se ne da zanesljivo izključiti.



Slika 3. CT prsnih organov visoke resolucije leta 2015. Razvita slika pljučne histiocitose Langerhansovih celic: izrazita destrukcija pljuč, obsežne cistične svetline in emfizemske bule po celotnem parenhimu, največ v zgornjih režnjih. Vidni specifični radiološki znaki pljučne hipertenzije.

celični vnetni infiltrati, ki jih v različnih razmerjih sestavljajo limfociti, plazmatke, eozinofilni granulociti, makrofagi in vezivne celice. Slednje ponekod prevladujejo, tu je tudi več veziva, ki ponekod tvorijo nakazane zvezdaste strukture. Okrog teh je videti razširjene dihalne prostore v smislu pericikatricielnega emfizema. Poleg omenjenega vnetja so v intersticiju tudi posamični granulomi ali granulomi v manjših skupkih, ki so nekazeozni. Ponekod kažejo špranjaste vretenaste optično prazne prostore, žariščno tudi s kristaliničnimi strukturami ali celo kalcifikacijami. Znotrajpljučno najdemo tudi redke žariščne osifikacije. CD1a-pozitivne celice so posamične ali v manjših skupkih pretežno (peri)bronhialno in deloma tudi v intersticiju, ponekod izrazito ob že omenjenih granulomih. S-100-pozitivne celice se nahajajo približno na istih področjih. Barvanje po Ziehl-Neelsnu in Grocottu ne prikaže mikroorganizmov. Za limfangioleiomatozo značilna pozitivna reakcija HMB (angl. *human melanoma black*) 45 je negativna.

Mnenje

Nenavadna histološka slika, kjer vsekakor lahko izključimo limfangioleiomatozo. Nedvomno gre za neredne intersticijske spremembe, ki tako po obliki kot sestavi najbolj spominjajo na PHLC. Morda je CD1a- in S-100-pozitivnih celic nekoliko premalo za dokončno diagnozo, čeprav se zdi ta še najbolj verjetna. Poleg tega pa so nenavadni granulomi tujkovega tipa, ki jih običajno pri PHLC ne opisujejo. Verjetneje je, da gre glede na anamnestične podatke še dodatno za drugo bolezen, lahko tudi za granulomski ekstrinzični alergični bronhioalveolitis. Od granulomatoz so manj verjetne sarkoidoza ali celo sindrom Churg-Strauss, še posebej, zaradi odsotnosti klinične eozinofilije.

RAZPRAVA

V članku predstavljamo bolnico s PHLC. Znano je, da je PHLC običajno bolezen ka-

dilcev (4, 5). Poleg tega da je to relativno redka bolezen, je bila pri naši bolnici postavitev diagnoze še težja, saj je bila nekadilka (1). V začetnem obdobju bolezni je imela nespecifične radiološke spremembe za PHLC. Te so ob nespecifični klinični sliki in raznolikih testih pljučne funkcije ključne za postavitev diagnoze (10). Do postavitve pravilne diagnoze je pri bolnici preteklo nekaj let. Po postavitvi diagnoze smo ob natančnejši anamnezi ugotovili, da je bila kajenju stalno izpostavljena doma (starši in kasneje partner) in na delovnem mestu. Kljub temu da je bila bolnica nekadilka, je kot pasivna kadilka razvila bolezen, značilno za kadilce. Iz našega primera bolezni bolnice s PHLC je razvidno, da je lahko že dolgoletno intenzivno pasivno kajenje zadosten dejavnik tveganja za razvoj PHLC pri nekadilcu (5).

Isolacija iz kadilskega okolja in izguba telesne mase sta nedvomno pomembno doprinesli k boljšemu poteku bolezni, kar je v literaturi opisano tudi za aktivne kadilce. Pri aktivnih kadilcih so namreč po popolni prekinitvi kajenja in stika s cigaretinim dimom klinični in radiološki kazalci bolezni delno ali celo popolnoma izginili (17, 18). Ob prvem poslabšanju bolezni smo pri bolnici razmišljali tudi o možnosti presaditve pljuč, vendar je bila ta, sprva zaradi ugodnega poteka bolezni in pomembnega tveganja za pooperativne zaplete, vključno s ponovitvijo bolezni v presajenih pljučih, odložena. Iz literature je namreč razvidno, da se PLHC lahko ponovi tudi pri 20,5% bolnikov po presaditvi pljuč (19). Kasneje se bolnica po dolgoletnem stabilnem stanju iz istih razlogov zanj v skupnem dogovoru s kirurgi ni več odločila.

Razvoj in potek bolezni PHLC še ni dovolj dobro pojasnjen. Znano pa je, da je povezan s cigaretinim dimom in da lahko z izogibanjem cigaretinemu dimu aktivno in pri naši bolnici pasivno dosežemo vidno izboljšanje kliničnega stanja. V opisanem primeru poteka PHLC smo prikazali, da je tudi

konzervativno zdravljenje pri bolnikih, pri katerih je zaradi drugih dejavnikov tvegana nja presaditev pljuč bolj tvegana, ustrezno, čas preživetja se s tem lahko podaljša. V našem primeru je bolnica dočkala 12 let, kar je več kot povprečno pričakovano preživetje bolnikov s presaditvijo pljuč.

ZAKLJUČEK

Naš namen je bil prikazati, da PHLC ni samo bolezen aktivnih kadilcev, ampak ima lahko podobno klinično sliko in potek pri pasivnih kadilcih, kot je bil primer naše bolnice. Prav tako se je pri pasivni kadilki s PHLC po prenehanju izpostavljenosti pasivnemu kajenju klinično stanje boleznih popravilo,

kot se običajno lahko popravi pri PHLC kadilcev po prenehanju kajenja. Rezultati naše raziskave naj torej še dodatno podpirajo družbeno pobudo, ki je pred časom doseгла ukinitvev kajenja v vseh javnih prostorih, in ji pomagajo, da bi se še aktivneje ozaveščalo o pomenu prenehanja aktivnega in pasivnega kajenja v vseh starostnih skupinah prebivalstva.

ZAHVALA

Za pomoč pri nastajanju in oblikovanju članka s pisnim histološkim izvidom biopsije pljuč se najlepše zahvaljujemo prof. dr. Nini Gale, dr. med.

LITERATURA

1. Jaffe R, Weiss LM, Facchetti F. Tumours derived from Langerhans cells. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, eds. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2008. p. 358–60.
2. Vassallo R, Jensen EA, Colby TV, et al. The overlap between respiratory bronchiolitis and desquamative interstitial pneumonia in pulmonary Langerhans cell histiocytosis: high-resolution CT, histologic, and functional correlations. *Chest*. 2003; 124 (4): 1199–205.
3. King ET Jr. Pulmonary Langerhans cell histiocytosis [internet]. UpToDate; 2017 [citirano 2017 Oct 14]. Dosegljivo na: <https://www.uptodate.com/contents/pulmonary-langerhans-cell-histiocytosis#H3/>
4. Tazi A. Adult pulmonary Langerhans' cell histiocytosis. *Eur Respir J*. 2006; 27 (6): 1272–85.
5. Tadokoro A, Ishii T, Bandoh S, et al. Pulmonary Langerhans cell histiocytosis in a non-smoking Japanese woman. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. 2011; 49 (3): 203–7.
6. Radzikowska E. Pulmonary Langerhans' cell histiocytosis in adults. *Adv Respir Med*. 2017; 85 (5): 277–89.
7. Laman JD, Leenen PJ, Annelis NE, et al. Langerhans-cell histiocytosis 'insight into DC biology'. *Trends Immunol*. 2003; 24 (4): 190–6.
8. Harari S, Brenot F, Barberis M, et al. Advanced pulmonary histiocytosis X is associated with severe pulmonary hypertension. *Chest*. 1997; 111 (4): 1142–4.
9. Juvet SC, Hwang D, Downey GP. Rare lung diseases III: pulmonary Langerhans' cell histiocytosis. *Can Respir J*. 2010; 17 (3): 55–62.
10. Abbott GF, Rosado-de-Christenson ML, Franks TJ, et al. From the archives of the AFIP: pulmonary Langerhans cell histiocytosis. *Radiographics*. 2004; 24 (3): 821–41.
11. Brauner MW, Grenier P, Tijani K, et al. Pulmonary Langerhans cell histiocytosis: evolution of lesions on CT scans. *Radiology*. 1997; 204 (2): 497–502.
12. Hance AJ, Basset F, Saumon G, et al. Smoking and interstitial lung disease. The effect of cigarette smoking on the incidence of pulmonary histiocytosis X and sarcoidosis. *Ann N Y Acad Sci*. 1986; 465: 643–56.
13. Wilson AJ, Maddox PH, Jenkins D. CD1a and S100 antigen expression in skin Langerhans cells in patients with breast cancer. *J Pathol*. 1991; 163 (1): 25–30.
14. Basset F, Corrin B, Spencer H, et al. Pulmonary histiocytosis X. *Am Rev Respir Dis*. 1978; 118: 811.
15. Vassallo R, Limper AH. Pulmonary Langerhans cell histiocytosis. In: King TE Jr, Schwarz MI, eds. *Interstitial Lung Disease*, 4th ed. Hamilton, Canada: B.C. Decker; 2003. p. 838.
16. Yoshida T, Konno S, Tsujino I, et al. Severe pulmonary hypertension in adult pulmonary Langerhans cell histiocytosis: the effect of sildenafil as a bridge to lung transplantation. *Intern Med*. 2014; 53 (17): 1985–90.
17. Mogulkoc N, Veral A, Bishop PW, et al. Pulmonary Langerhans' cell histiocytosis: radiologic resolution following smoking cessation. *Chest*. 1999; 115 (5): 1452.
18. Von Essen S, West W, Sitorius M, et al. Complete resolution of roentgenographic changes in a patient with pulmonary histiocytosis X. *Chest*. 1990; 98 (3): 765–7.
19. Dauriat G, Mal H, Thabut G, et al. Lung transplantation for pulmonary Langerhans' cell histiocytosis: a multicenter analysis. *Transplantation*. 2006; 81 (5): 746–50.

Alja Gabrilo¹, Primož Gradišek²

Sindrom maščobne embolije in prikaz primera

Fat Embolism Syndrome and Case Report

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: sindrom maščobne embolije, poškodba skeleta, nevrološka prizadetost, podporno zdravljenje

Sindrom maščobne embolije označuje večorgansko prizadetost, ki nastane zaradi sistemskega imunskega odziva kot posledica zapore kapilar z maščobnimi kapljicami ali toksičnega učinka presnovkov maščob na endotelij žil. Najpogosteje se razvije v 24–72 urah po poškodbi skeleta, lahko pa nastane tudi kot posledica drugih, nepoškodbenih stanj. Incidenca sindroma je pri bolnikih z zlomi dolgih kosti ali hudo poškodovanih 1–11 %, čeprav se maščobna embolija, tj. prisotnost maščobnih kapljic v krvnem obtoku in pljučnem tkivu, pojavlja pri več kot 90 % poškodovancev z zlomi dolgih kosti ali kosti medeničnega obroča. V največjem številu primerov se sindrom začne s simptomi in znaki dihalne stiske, vendar so ti lahko tudi odsotni in prevladuje nevrološka prizadetost, ki se lahko stopnjuje do hude motnje zavesti. Diagnoza temelji na kliničnih diagnostičnih kriterijih, ki jih podpremo z izvidi laboratorijskih in slikovnodiaagnostičnih preiskav. V primeru nevrološke prizadetosti je uporabno predvsem T2-obteženo magnetnoresonančno slikanje glave, ki prikaže značilne spremembe v možganovini. Zdravljenje je podporno, z zagotavljanjem zadostne ventilacije in nasičenosti krvi s kisikom, hemodinamske stabilnosti, preprečevanjem globoke venske tromboze ter zdravljenjem odpovedi desnega prekata. Glavni ukrep za preprečevanje nastanka sindroma je čimprejšnja imobilizacija in operativna stabilizacija zlomov. Pomembna sta zgodnja prepoznavna sindroma in pravočasno podporno zdravljenje, s katerim pri večini bolnikov dosežemo popolno ozdravitev.

ABSTRACT

KEY WORDS: fat embolism syndrome, skeletal injury, neurologic manifestations, supportive care

Fat embolism syndrome is a systemic inflammation response affecting multiple organs. It develops as a consequence of the occlusion of small capillaries with fat globules or due to the toxic effect of fat metabolites. Most often it develops 24–72 hours after skeletal trauma, but can also be associated with some non-traumatic conditions. The incidence of fat embolism, which means a presence of fat particles in the circulation and lung parenchyma, is more than 90% in patients who suffered long bone or pelvic girdle fractures, while the incidence of fat embolism syndrome is only 1–11% in patients with multiple fractures. Most often, the syndrome begins with signs of acute respiratory

¹ Alja Gabrilo, dr. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; alja.gabrilo@gmail.com

² Doc. dr. Primož Gradišek, dr. med., Klinični oddelek za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; Katedra za anesteziologijo in reanimatologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

insufficiency. However, some patients do not develop symptoms of lung involvement and have predominantly neurologic manifestations, which can progress to severe mental deterioration and even coma. Diagnosis is usually based on clinical findings. In addition, laboratory tests and radiographic imaging can be performed. In the case of severe neurologic symptoms, T2-weighted magnetic resonance images typically reveal multiple hyperintense lesions in subcortical, periventricular and deep white matter. The main treatment of the syndrome is supportive care, providing adequate oxygenation and ventilation, hemodynamic support, the prevention of deep venous thrombosis and management of acute right ventricle heart failure. The most important measure in the prevention of fat embolism syndrome is early immobilization and the operative stabilization of fractures. It is essential to recognize the development of fat embolism syndrome and start with early supportive treatment. Most patients fully recover without long-term consequences.

UVOD

Izraz maščobna embolija pomeni prisotnost maščobnih kapljic v krvnem obtoku in pljučnem parenhimu, ki se pojavi pri približno 90 % bolnikov z zlomom dolgih kosti ali kosti medeničnega obroča. Večinoma je asimptomatska (1).

Sindrom maščobne embolije (angl. *fat embolism syndrome*, FES) je klinična diagnoza in označuje večorgansko prizadetost zaradi sistemskega vnetnega odziva, ki je posledica mehanske zapore drobnih krvnih žil z maščobnimi kapljicami ali toksičnega učinka prostih maščobnih kislin na endotelij kapilar. Najpogosteje se razvije po poškodbah skeleta, v povezavi z razvojem FES pa so opisana tudi nekatera nepoškodbeno stanja, kot so akutno vnetje trebušne slinavke, sladkorna bolezen, osteomielitis, srpastocelične hemoglobinopatije in alkoholna (maščobna) okvara jeter (2). Pojavlja se pri 1–11 % bolnikov z zlomi dolgih kosti ali pri hudo poškodovanih (3). Incidenca FES je višja pri mladih moških zaradi mehanizma nastanka visokoenergijskih poškodb skeleta v prometnih nesrečah. Zelo redko se pojavi pri otrocih, saj njihov kostni mozeg vsebuje več hematopoetskih celic in manj maščobe (4). Smrtnost FES je 10-odstotna, večina preživelih dobro okreva. Dolgoročne nevrološke posledice pri preživelih še niso bile natančno raziskane (3).

Klasična klinična slika FES, ki vključuje prizadetost dihal, osrednjega živčevja, kože in sluznic, se najpogosteje razvije 24–72 ur po poškodbi (5). Obstajajo različni klinični, laboratorijski in slikovnodiagnostični kriteriji za postavitev diagnoze, pogosto pa je to izključitvena diagnoza ob ugotovljeni klasični klinični triadi simptomov, ki se pojavi v ustreznem časovnem obdobju po poškodbi. Prizadetost pljuč, ki se kaže z dispnejo, tahipnejo in hipoksemijo, je najpogostejša in običajno prva klinična manifestacija FES ter se pojavlja pri do 95 % bolnikov. Nevrološka simptomatika je pogosta, pojavlja se pri 60–86 % bolnikov. Kaže se lahko z glavobolom, zmedenostjo, epileptičnimi napadi, žariščnimi nevrološkimi simptomi in znaki ali celo s stuporjem in komo (6).

V nadaljevanju je predstavljen klinični primer mladega moškega, ki je v prometni nesreči utrpel več zlomov. Približno 12 ur po poškodbi se je pri bolniku razvil FES s hudo nevrološko simptomatiko, vendar brez značilne prizadetosti pljuč.

PRIKAZ PRIMERA

Predstavljamo primer 20-letnega moškega, ki je bil poškodovan v prometni nesreči kot voznik motornega kolesa. Ob prihodu reševalne ekipe je bil pri zavesti, pogovorljiv, tožil je za bolečinami v levi roki in nogi ter po desni strani medenice. Ob pregledu

na terenu pulzi na levi nogi niso bili tipni, noga je bila hladnejša. Z reševalnim vozilom je bil s pravilno imobilizirano vratno hrbtenico pripeljan v Univerzitetni klinični center Ljubljana. Ob sprejemu je bil hemodinamsko stabilen, izmerjena vrednost krvnega tlaka je bila 110/60 mmHg, frekvenca utripa 100/min, dihal je samostojno. Zenici sta bili srednje široki in simetrično odzivni, stopnja zavesti, ocenjena po Glasgowski lestvici nezavesti (angl. *Glasgow Coma Scale*, GCS), je bila 13. Na terenu je prejel protibolečinsko terapijo. Nad desno črevnico sta bili vidni kontuzijska značka in oteklina, levo lateralno v višini glavice mečnice je bila vidna večja oteklina s tipnimi krepitacijami. Opravili smo RTG prsnega koša, na katerem ni bilo videti patoloških sprememb. RTG medenice je pokazal zlom desne črevnice, RTG leve nadlahtnice pa zlom diafize nadlahtnice s spiralno lomno poko, ki se je širila proti glavi nadlahtnice (slika 1). Na RTG leve goleni in gležnja smo ugotovili zdrobljeni zlom golenice na meji med srednjo in spodnjo tretjino ter dvojni zlom mečnice. Na CT glave ter vratne, prsne in ledvene hrbtenice nismo ugotavljali pato-

loških sprememb. UZ trebuha ni pokazal znakov poškodbe trebušnih organov. Po opravljeni diagnostiki smo bolniku operativno oskrbeli zlom leve goleni z namestitvijo zunanjšega fiksaterja ter opravili medialno in lateralno fasciotomijo za sprostitev vseh štirih mišičnih lož leve goleni (slika 2). Po sprejemu na travmatološki oddelek je bil bolnik pri zavesti, orientiran in pogovorljiv. Dihal je spontano, nasičenost krvi s kisikom brez dodanega kisika je bila 98-odstotna, bolnik je bil hemodinamsko stabilen.

Približno 12 ur po začetni obravnavi je bolnik nenadoma postal hipotenziven in tahikarden s frekvenco utripa 170/min. Dihal je spontano z dodatkom kisika po dvorogem nosnem katetru, ob tem je bila nasičenost krvi s kisikom 97-odstotna. Navajal je slabost, zatem je bruhal v loku. Stanje zavesti se mu je v naslednjih urah poslabšalo, v zgodnjih večernih urah je postal povsem neodziven. Zvečer so se pojavili tudi ekstenzijski krči po desni strani telesa, GCS je bila ocenjena na vrednost 3, zenici sta se razširili in spontano zožili takoj po koncu napa-da. Zaradi suma na maščobno embolijo je



Slika 1. Zlom leve nadlahtnice.

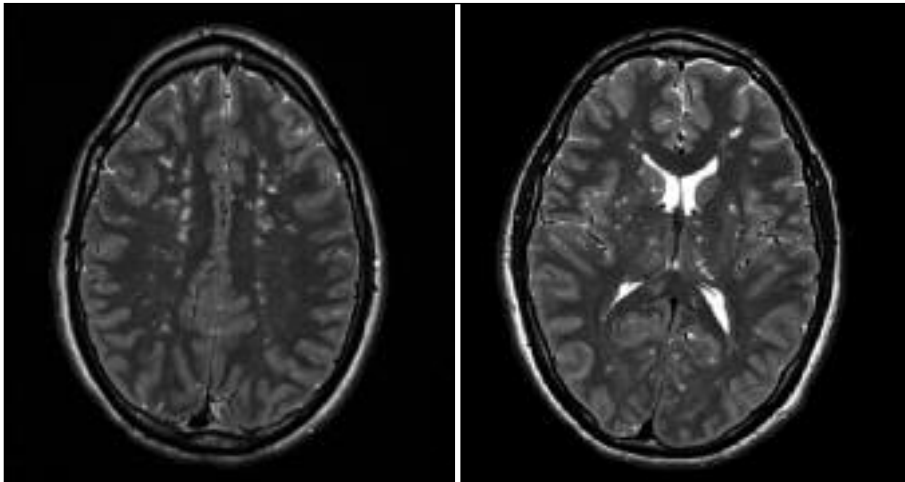


Slika 2. Osteosinteza zloma golenice.

bil opravljen CT prsnega koša, ki ni pokazal večjih polnitvenih defektov pljučnih arterij ali sekundarnih znakov za maščobno embolijo, in CT glave, ki ni pokazal patoloških sprememb. Sprejet je bil v Center intenzivne terapije (CIT). Bolnik je bil intubiran in kontrolirano ventiliran.

Na dan sprejema v CIT je bila opravljena MRI glave s standardnimi sekvencami za prikaz znotrajlobanjskih struktur. Na T2-obteženih sekvencah so bile vidne številne pikčaste hiperintenzivnosti v čelno-temenskem režnju in subkortikalno v levem zatilnem režnju, obojestransko v semiovalnem centru ob stranskih ventriklih ter posamezne drobne lezije v področju bazalnih ganglijev (slika 3). Na difuzijsko obteženem pulznem zaporedju je bila vidna motnja difuzije v predelih supratentorialnih hiperintenzivnih lezij, na susceptibilno obteženem pulznem zaporedju so bile vidne številne pikčaste hipointenzivnosti. Opisane spremembe so bile skladne z MRI značilnostmi možganske maščobne embolije. Opažali smo tudi petehialne krvavitve v področju pazduh in subkonjunktivalno (slika 4, slika 5). Kot najverjetnejši izvor maščobne embolije je bila ocenjena poškodba črevnice.

S transezofagealnim UZ nismo zaznali desno-leve povezave v srcu, zato smo izključili možnost odprtega ovalnega okna (angl. *patent foramen ovale*, PFO) in defekta atrijskega septuma. Elektroencefalogram je pokazal zmerno encefalopatijo brez epileptiformne aktivnosti. Dan po sprejemu je bil bolnik ponovno operiran. Opravljena je bila osteosinteza črevnice z žebli, na levo nadlahtnico pa je bil nameščen zunanji fiksater (slika 6). Po treh dneh smo ponovili MRI glave, ki je pokazal izrazito napredovanje z močno povečanim številom in obsegom FLAIR- (angl. *fluid-attenuated inversion recovery*) in T2-hiperintenzivnih lezij globoke in subkortikalne bele možganovine, bazalnih ganglijev ter na posameznih mestih tudi možganske skorje z motnjo difuzije. Viden je bil tudi edem možganovine infratentorialno, zato je bil bolnik uspavan. Četrty dan zdravljenja smo uvedli empirično antibiotično terapijo zaradi pljučnice. Poleg tega je prejemal še antiepileptik levitiracetam, nizkomolekularni heparin, rosuvastatin in magnezij. Med bolnišničnim zdravljenjem smo ugotavljali porast bilirubina (ki je postopno upadel) in jetrnih encimov, najverjetneje kot posledica sistem-



Slika 3. Hiperintenzivne spremembe na T2-obteženem MRI glave. Spremembe so skladne z diagnozo maščobne embolije.

skega učinka maščobne embolije. UZ trebuha ni pokazal sprememb, ki bi lahko bile vzrok hepatopatije.

Bolniku smo po izboljšanju stanja na kontrolnem CT glave postopno ukinjali sedacijo in ga prevedli na spontano dihanje. Po 14 dneh zdravljenja v CIT je bil ekstu-



Slika 4. Aksilarne petehialne krvavitve.



Slika 5. Petehialne krvavitve na očesni veznici.



Slika 6. Osteosinteza zloma desne črevnice z vijaki.

biran, 19. dan pa je bil premeščen na travmatološki oddelek. Bolnika smo ambulantno sledili nadaljnji dve leti, vendar kognitivnih motenj nismo opazili.

PATOFIZIOLOGIJA

Patofiziološki mehanizmi, ki privedejo do kliničnega pojava maščobne embolije, niso natančno pojasnjeni. Obstaja več teorij o razvoju FES.

Mehanska teorija

Po mehanski teoriji se maščobne kapljice ob prekinitvi maščobnih celic zaradi poškodbe sprostijo iz kostnega mozga ali maščobnega tkiva. V primeru zloma maščobni delci vstopijo v krvni obtok skozi poškodovane vene. To se zgodi, kadar je intramedularni tlak višji od tlaka v venah. Po krvnem obtoku nato pridejo do pljučnega žilja, kjer kot mikroemboli mehansko zaprejo pljučne kapilare (4). Zaradi embolov v pljučnem žilju se poveča tlak v pljučnih arterijah in desnem delu srca. Tako lahko maščobni delci prehajajo v sistemski obtok preko desno-leve povezave v srcu (npr. preko PFO) in povzročijo paradokso embolijo. V več raziskavah pa so ugotavljali tudi pojavljanje sistemskih mikroembolizmov s prizadetostjo tarčnih organov, predvsem osrednjega živčevja in kože, v odsotnosti PFO. Do tega lahko pride, kadar se maščobni emboli dovolj deformirajo, da lahko prehajajo skozi pljučno kapilarno žilje v sistemski obtok ob povišanem pljučnem arterijskem tlaku oz. so manjši od 20 μm in tako zaobidejo pljučni filter, ki je učinkovit za večje delce (3, 7).

Vseeno pa pojava simptomov in znakov z značilnim zamikom 24–72 ur po poškodbi ni mogoče popolnoma pojasniti z mehansko teorijo (7).

Biokemična teorija

Druga predlagana alternativna oz. sočasna teorija razvoja FES je biokemična teorija, pri kateri imajo pomembno vlogo v razvoju

okvar tarčnih organov toksični presnovki maščob. V krvnem obtoku pride v nekaj urah do razgradnje maščob v proste maščobne kisline. Te so na živalskih modelih dokazano povzročile okvaro endotelija in povečano žilno prepustnost, kar je privedlo do sindroma akutne dihalne stiske (angl. *acute respiratory distress syndrome*, ARDS). S tem mehanizmom je mogoče pojasniti tudi okvaro drugih tarčnih organov in časovni zamik v pojavu simptomov, ki je skladen s časom do nastanka toksičnih produktov razgradnje maščob (8).

KLINIČNA SLIKA

Najpogosteje se klinični simptomi in znaki FES pojavijo s časovnim zamikom 24–72 ur po poškodbi, v redkih primerih pa se lahko klinična slika razvije že po 12 urah ali do 2 tedna po poškodbi (9). Klasična triada simptomov in znakov vključuje prizadetost dihal, osrednjega živčevja in kože (6). Prizadetost pljuč se običajno pojavi kot prva klinična manifestacija FES, ki se kaže z dispnejo, tahipnejo in hipoksemijo. Stopnja prizadetosti se pri različnih bolnikih razlikuje in lahko napreduje do ARDS. Približno polovica bolnikov s FES po zlomu dolgih kosti razvije hudo hipoksemijo in dihalno odpoved ter potrebuje umetno ventilacijo (10). Nevrološka simptomatika se razvije v do 86 % primerov kot posledica embolij v možgansko žilje. Pojavlja se v zgodnji fazi razvoja FES, najpogosteje sledi razvoju dihalne stiske. Simptomi in znaki nevrološke prizadetosti so zelo raznoliki; od blage zmedenosti, omotice in glavobola do epileptičnih napadov. Pride lahko tudi do motoričnega nemira, stuporja ali celo kome. Najpogosteje se razvije akutna motnja zavesti, možni pa so tudi žariščni nevrološki simptomi in znaki, npr. izpadi vidnega polja, hemiplegija in afazija. Skoraj vsi nevrološki izpadi so reverzibilni in ne puščajo trajnih posledic (7). Edini patognomonični znak FES so kožne spremembe v obliki petehij, vendar se ne pojavijo pri vseh bolni-

kih, ampak le v približno 60 % primerov. Nastanejo kot posledica embolizacije v kapilare usnjice, zaradi česar pride do ekstravazacije eritrocitov in značilnega petehialnega izpuščaja. Ta se najpogosteje pojavi na sluznici ustne votline in očesne veznice ter na koži vratu in pazduh (11).

DIAGNOSTIKA IN ZDRAVLJENJE

Diagnostika

Diagnoza FES običajno temelji na kliničnih kriterijih, ki pa so nespecifični, zato so za diagnozo pomembni tudi izvidi laboratorijskih in slikovnodiaagnostičnih preiskav. Najpogosteje uporabljeni klinični diagnostični kriteriji so Gurdovi kriteriji (tabela 1). Prilagojeni Gurdovi kriteriji vključujejo še znake, najdene na slikovnih preiskavah. Za postavitve diagnoze FES je potrebna prisotnost vsaj enega glavnega in vsaj štirih pomožnih kriterijev, vendar je zaradi odsotnosti zadostne specifičnosti njihova uporaba v praksi omejena (3, 8). Izvidi laboratorijskih preiskav so uporabni le za potrditev klinične diagnoze in spremljanje uspešnosti zdravljenja, saj nobena laboratorijska preiskava nima zadostne občutljivosti in specifičnosti za postavitve diagnoze FES (4). Hematološke preiskave lahko pokažejo anemijo, ki se pojavlja pri 70 % bolnikov, in trombocitopenijo, ki se razvije pri do 50 % bolnikov. Z biokemijskimi preiskavami lahko ugotovimo hipokalcemijo zaradi vezave prostih maščobnih kislin na serumski kalcij in zvišano raven serumske lipaze, ki pa se pogosto pojavlja pri bolnikih s poškodbami skeleta tudi v odsotnosti FES. Prav tako koncentracija lipidov v krvi ni zadosten diagnostični kriterij, saj izraženost klinične slike FES ni sorazmerna s koncentracijo maščob v krvi. Citološka preiskava krvi, urina ali izmečka po barvanju z barviloma Sudan ali Oil Red O lahko prikaže prisotnost maščobnih kapljic, ki so bodisi proste ali znotraj makrofagov, a njihova prisotnost ni nujna za potrditev diagnoze. Prav tako so v eni izmed raziskav ugotavljali prisotnost

maščobnih kapljic v serumu pri več kot 50 % bolnikov, ki so utrpeli enega ali več zlomov in niso razvili klinične slike FES (7). Diagnostična vrednost bronhoalveolarne lavaže za dokazovanje maščobnih kapljic v alveolarnih makrofagih ni dokazana, saj občutljivost in specifičnost te metode nista znani.

Na RTG prsnega koša v začetnih fazah razvoja FES ni sprememb, kasneje pa se lahko pojavijo obojestranski intersticijski in alveolarni infiltrati (4). Značilne spremembe na CT pljuč so zgostitve videza mlečnega stekla z zadebeljenimi interlobularnimi septami, lahko pa so vidni tudi centrolobularni ali subpleuralni noduli, ki predstavljajo mikrokrvavitve, alveolarni edem ali lokalni vnetni odziv zaradi ishemije (12). Zaradi nespecifične klinične slike in laboratorijskih kazalnikov FES s prevladujočo nevrološko simptomatiko je slikovna diagnostika pri tej skupini bolnikov še posebej pomembna za postavitev diagnoze. CT gla-

ve običajno ne pokaže sprememb, v nekaterih primerih pa lahko razkrije difuzni možganski edem z mikrokrvavitvami v beli možganovini. Bolj občutljiva preiskava je MRI glave. Na T2-obteženih slikah so tipične majhne, hiperintenzivne spremembe, ki dajejo videz zvezdnatega neba. Pojavljajo se predvsem v periventrikularni, subkortikalni in globoki beli možganovini (13). Za večjo občutljivost in specifičnost MRI uporabimo difuzijsko obteženo slikanje, na katerem so značilne bele pikčaste spremembe na temnem ozadju, ki prav tako dajejo videz zvezdnatega neba (14). V zadnjem času se v diagnostiki možganske prizadetosti v okviru FES uporablja tudi susceptibilno obteženo MRI, ki prikaže difuzne mikrokrvavitve v možganovino kot področja nizke intenzitete (15). Diferencialna diagnoza tovrstnih najdb na MRI glave poleg FES vključuje tudi difuzno aksonsko okvaro, vazogeni edem z mikroinfarkti in demieli-

Tabela 1. Gurdovi kriteriji. PaO₂ – delni tlak kisika v arterijski krvi (angl. *partial pressure of arterial oxygen*), FiO₂ – delež kisika v vdihani zmesi (angl. *fraction of inspired oxygen*).

Gurdovi kriteriji	Prilagojeni Gurdovi kriteriji
Glavni kriteriji	
petehije	petehije na veznici ali zgornjem delu trupa
hipoksemija	PaO ₂ < 60 mmHg pri FiO ₂ 0,21 s pljučnim infiltratom, vidnim na RTG prsnega koša ali brez
spremenjena zavest	spremenjena zavest z več lezijami v beli možganovini, vidnimi na MRI glave
Pomožni kriteriji	
tahikardija	srčna frekvenca > 100/min
povišana telesna temperatura	telesna temperatura > 38 °C
trombocitopenija	število trombocitov < 100 × 10 ³ /ml
nepojasnjena anemija	anemija s koagulopatijo ali diseminirano intravaskularno koagulacijo brez dokazanega mesta krvavitve
anurija ali oligurija	anurija ali oligurija
emboli v mrežnici	emboli v mrežnici
maščobne kapljice v urinu ali izmečku	
zlatenica	
pospešena sedimentacija eritrocitov	

nizacijske bolezni (13). S patohistološkimi preiskavami so odkrili, da lahko ločimo prizadetost v sklopu FES od difuzne aksonske okvare glede na lokalizacijo opisanih sprememb. V primeru FES nastanejo spremembe predvsem v belini velikih in malih možganov ter v spleniumu kaloznega korpusa, medtem ko so spremembe pri difuzni aksonski okvari značilne v predelu stika med belo in sivo možgansko snov, v dorzolateralnem delu možganskega debla in spleniumu kaloznega korpusa (15).

Preprečevanje

Najpomembnejša ukrepa za preprečevanje nastanka FES pri poškodovancih sta zgodnja imobilizacija in zunanja ali notranja učvrstitev zlomov. Incidenca FES je nižja pri bolnikih, pri katerih so bili zlomi oskrbljeni operativno (4). Dokazov, da bi zapiranje PFO zmanjšalo pojavnost FES, še ni (3). Pri bolnikih s politravmo je potrebno individualno odločanje o načinu in časovnem okviru učvrstitve zlomov, da dosežemo ravnovesje med čim hitrejšo stabilizacijo zlomov in obenem preprečimo pretiran imunski odziv zaradi dolgotrajnih in zapletenih operativnih posegov pri takem poškodovancu (16). Med specifičnimi zdravili so za preprečevanje razvoja FES pri bolnikih z zlomi dolgih kosti najpogosteje preizkušani glukokortikoidi. Glukokortikoidi naj bi bili učinkoviti zaradi svojega protivnetnega delovanja, s stabilizacijo pljučnih kapilarnih membran pa naj bi zmanjševali pojavnost hipoksemije ter verjetnost razvoja FES. Žal zadnja metaanaliza, opravljena leta 2009, ni dokazala njihovega vpliva na umrljivost (3, 7).

Zdravljenje

Specifičnega zdravljenja FES ni, zato je zdravljenje le podporno. S simptomatskimi ukrepi večina bolnikov popolnoma okreva (17). Podporno zdravljenje zajema optimizacijo nasičenosti krvi s kisikom, ventilacije, vzdrževanje hemodinamske stabilnosti z nado-

meščanjem tekočin in vazopresorji, preprečevanje globoke venske tromboze ter zdravljenje odpovedi desnega prekata z inotropnimi zdravili (3, 6). Glukokortikoidi pri zdravljenju FES niso učinkoviti, prav tako je nejasen pomen primarne protiepileptične profilakse (3).

RAZPRAVA

Predstavljen primer mladega poškodovanca s FES nazorno prikaže, kako raznolik in nespecifičen je lahko klinični potek. Gre za življenje ogrožajoče stanje, ki ga je potrebno dovolj hitro prepoznati in bolniku zagotoviti pravočasno podporno zdravljenje, ki v večini primerov omogoči popolno okrevanje. Ravno zaradi nespecifične klinične slike in odsotnosti specifičnih laboratorijskih testov predstavlja FES diagnostični izziv. V opisanem primeru se je FES razvil kot hitro napredujoča prizadetost osrednjega živčevja. Že približno 12 ur po poškodbi je bolnik postal hipotenziven in tahikarden, njegova zavest se je v naslednjih nekaj urah hitro zožila, vendar ne zaradi hipotenzije. Postal je neodziven (vrednost GCS 3), pojavili so se tudi krči po desni strani telesa, ki so dajali vtis epileptičnega napada. Simptomi in znaki dihalne stiske, ki so običajno prva in najpogostejša klinična predstavitev FES, se pri bolniku niso razvili. Tudi CT prsnega koša ni pokazal značilnih sprememb. Opazili pa smo značilni petehialni izpuščaji v področju pazduh in očesnih veznic. Kljub precej neznačilni klinični sliki z nevrološko prizadetostjo, ki bi se diferencialno diagnostično lahko razvila tudi zaradi difuzne aksonske okvare ali druge možganske patologije, smo postavili sum na FES. Izvor maščobne embolije je bil najverjetneje zlom črevnice, vendar je bolnik utrpel zlome več kosti, poleg desne črevnice še leve nadlahtnice, golenice ter mečnice, kar je skladno z višjo incidenco razvoja FES pri bolnikih z večimi zlomi. Bil je premeščen v CIT, kjer smo ga zaradi nezavesti in krčev sedirali in umetno predihavali. Diagnoza je bila

potrjena z MRI glave, ki je na T2-obteženih slikah prikazala MRI spremembe, značilne za FES. Tudi spremembe na difuzno in susceptibilno obteženih MRI so bile skladne z diagnozo. Na prvi je bila vidna motnja difuzije v predelih hiperintenzivnih lezij, na drugi pa so bile vidne številne hipointenzivne spremembe. S transezofagealnim UZ smo izključili možnost desno-leve komunikacije v srcu, ki bi lahko bila vzrok paradokсне embolije v sistemski obtok. Tako ta primer dokazuje dejstvo, da lahko maščobne kapljice prehajajo v sistemski obtok tudi v odsotnosti tovrstne komunikacije. To je možno skozi pljučno kapilarno žilje ob povišanem pljučnem arterijskem tlaku, ali pa skozi znotrajpljučne obvođe. Opravili smo tudi bronhoalveolarno lavažo, s katero smo po barvanju z barvilom Oil Red O ugotovili prisotnost maščob v alveolarnih makrofagih, kar je značilno za maščobno embolijo, čeprav je diagnostična vrednost te metode vprašljiva. Po Gurdovih kliničnih diagnostičnih kriterijih za postavitev diagnoze FES je bolnik izpolnjeval dva glavna kriterija (nevrološka prizadetost in petehialne krvavitve) ter dva pomožna kriterija (maščobne kapljice v alveolarnih makrofagih in tahikardija). Poleg podpornega zdravljenja smo zagotovili tudi stabilizacijo zlomov, in sicer smo mu že na dan poškodbe namestili

zunanjí fiksater na golenico, dan po sprejemu v CIT pa smo mu operativno stabilizirali zloma črevnice in nadlahtnice. Perioperativne zaščite z glukokortikoidi ni prejel. Bolnik je bil ustrezno simptomatsko zdravljen. Stanje se mu je postopno izboljševalo in 19. dan zdravljenja je bil odpuščen iz CIT. Bolnik ni imel zgodnjih ali poznih nevroloških posledic.

ZAKLJUČEK

FES je življenje ogrožajoče stanje, ki lahko zaradi neznačilne in raznolike klinične slike ter izvidov laboratorijskih preiskav predstavlja diagnostični izziv. Predstavili smo primer bolnika s hitro nastalo in napredujočo nevrološko simptomatiko, brez značilne pljučne prizadetosti in z nastankom sistemskih embolij v osrednje živčevje ter kožo v odsotnosti desno-leve povezave v srcu. Pri bolnikih z zlomi več kosti moramo ob vsaki spremembi stanja zavesti tudi v odsotnosti težav z dihanjem pomisliti na FES. V primeru prevladujoče nevrološke prizadetosti je ena najbolj uporabnih diagnostičnih preiskav MRI glave, ki prikaže značilne spremembe. Z ustreznim in pravočasnim podpornim zdravljenjem lahko preprečimo zaplete in omogočimo popolno ozdravitev bolnika.

LITERATURA

1. Sreenivasa RS, Kumbhat M, Sodalagunta MB, et al. Fat embolism syndrome: case report. *J Neurol Res*. 2016; 6 (5-6): 114-7.
2. Ten Duis HJ. The fat embolism syndrome. *Injury*. 1997; 28 (2): 77-85.
3. Godoy DA, Di Napoli M, Rabinstein AA. Cerebral fat embolism: recognition, complications, and prognosis [internet]. *Neurocrit care*. 2017 Sep 20 [citirano 2018 Jan 4]. Dosegljivo na: <https://doi.org/10.1007/s12028-017-0463-y>
4. Saigal R, Mittal M, Kansal A, et al. Fat embolism syndrome. *J Assoc Physicians India*. 2008; 56: 245-9.
5. Johnson MJ, Lucas GL. Fat embolism syndrome. *Orthopedics*. 1996; 19 (1): 41-9.
6. Bulger EM, Smith DC, Maier RV, et al. Fat embolism syndrome. A 10-year review. *Arch Surg*. 1997; 132 (4): 436-9.
7. Gupta A, Reilly CS. Fat embolism. *Contin Educ Anaesth Crit Care Pain*. 2007; 7 (5): 148-51.
8. Makarewich CA, Dwyer KW, Cantu RV. Severe neurologic manifestations of fat embolism syndrome in a polytrauma patient. *Am J Orthop*. 2015; 44 (1): E25-E8.
9. Carr J, Hansen S. Fulminant fat embolism. *Orthopedics*. 1990; 13 (2): 258-61.
10. King MB, Harmon KR. Unusual forms of pulmonary embolism. *Clin Chest Med*. 1994; 15 (3): 561-80.
11. Kaplan RP, Grant JN, Kaufman AJ. Dermatologic features of the fat embolism syndrome. *Cutis*. 1986; 38 (1): 52-5.
12. Van den Brande FGJ, Hellemans S, De Schepper A, et al. Post-traumatic severe fat embolism syndrome with uncommon CT findings. *Anaesth Intensive Care*. 2006; 34 (1): 102-6.
13. Parizel PM, Derney HE, Veeckmans G, et al. Early diagnosis of cerebral fat embolism syndrome by diffusion weighted MRI (star field pattern). *Stroke*. 2001; 32 (12): 2942-4.
14. Simon AD, Ulmer JL, Strottman JM. Contrast-enhanced MR imaging of cerebral fat embolism: case report and review of the literature. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2003; 24 (1): 97-101.
15. Zaitsev Y, Terae S, Kudo K, et al. Susceptibility-weighted imaging of cerebral fat embolism. *J Comput Assist Tomogr*. 2010; 34 (1): 107-12.
16. Pape HC, Tornetta P, Tarkin I, et al. Timing of fracture fixation in multitrauma patients: the role of early total care and damage control surgery. *J Am Acad Orthop Surg*. 2009; 17 (9): 541-9.
17. Mellor A, Soni N. Fat embolism. *Anaesthesia*. 2001; 56 (2): 145-54.

Anita Meglič¹

Gospa z občutkom suhih oči in ust

Ambulanto družinskega zdravnika je obiskala 56-letna gospa zaradi več mesecev trajajočega občutka suhih oči. Oči so jo pogosto pekle, večkrat je imela občutek, da ima v njih pesek. Povedala je tudi, da ima že nekaj let težave s suhimi usti, ki jih je dokaj uspešno lajšala s pogostim pitjem vode in izogibanjem suhi hrani, kot so piškoti in krušne palčke. Občasno so jo boleli sklepi na kazalcu (metakarpofalangealni in distalni interfalangealni sklep) in sredincu (metakarpofalangealni sklep) leve roke ter desno zapestje. Opažala je tudi, da je zadnjih nekaj mesecev čezmerno utrujena. Čeprav je ponoči dobro spala in si je vsako popoldne privoščila vsaj eno uro počitka, je bila še vedno utrujena in brez energije. Kroničnih bolezni ni navajala, prav tako ni jemala nobenih zdravil. Od otroštva je bila alergična na arašide.

Pri kliničnem pregledu so opazili, da sta obe očesi pordeli. Ustna sluznica je bila suha in lepljiva. Jezik je bil suh, pordel in razbrzdan, papile so bile delno odsotne. Drugih posebnosti ob kliničnem pregledu niso opazili.

Vprašanja

1. Kakšna je vaša delovna diagnoza?
2. Kateri anamnestični podatki in najdbe ob kliničnem pregledu so skladni z vašo delovno diagnozo?
3. Katere so možne diferencialne diagnoze?
4. Kako bi postavili diagnozo bolezni?
5. Kakšna je etiopatogeneza bolezni?
6. Kakšne so možnosti zdravljenja?

Odgovore na vprašanja najdete na naslednji strani.

¹ Anita Meglič, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; anitameglic@gmail.com

Odgovori

1. Sjögrenov sindrom. Sjögrenov sindrom je kronična sistemska avtoimunska vnetna bolezen, za katero je značilno imunsko povzročeno uničenje solznih žlez in žlez slinavk, lahko pa tudi drugih žlez z zunanjim izločanjem. Kadar bolezen poteka samostojno, govorimo o primarnem Sjögrenovem sindromu, če pa je Sjögrenov sindrom pridružen kakšni drugi avtoimunski bolezni, govorimo o sekundarnem Sjögrenovem sindromu. Najpogosteje se pojavlja pri bolnikih z revmatoidnim artritidom, sistemskim lupusom eritematozusom in sistemsko sklerozo. Ženske zbolijo devetkrat pogosteje kot moški. V Sloveniji je prevalenca primarnega Sjögrenovega sindroma 0,6 % in letna incidenca 4/100.000 odraslih prebivalcev (1).
2. V prid naši delovni diagnozi govorijo naslednji simptomi: občutek suhih ust in oči, utrujenost, lahko pa tudi bolečine v sklepih. Pri kliničnem pregledu smo opazili, da ima bolnica pordeli obe očesi, suho in lepljivo ustno sluznico ter razbrzdani in pordeli jezik z delno odsotnimi papilami. Sjögrenov sindrom ima izjemno širok razpon simptomov in znakov. V grobem jih razdelimo na simptome in znake, ki so povezani s prizadetostjo žlez z zunanjim izločanjem, in tiste, ki so povezani z zunajžlezno oz. sistemsko prizadetostjo. Suhe oči in z njimi povezani simptomi (občutek peska v očeh, občutek suhih in pekočih oči, povečana občutljivost na svetlobo) so prisotni pri 95 % bolnikov, suha usta in z njimi povezani simptomi (bolnik težko požira suho hrano, ima težave pri dolgotrajnem govorjenju) pa pri 90 % bolnikov. Suhost oči in ust sta v 45 % tudi začetna klinična manifestacija bolezni. Klinično lahko opazimo suh in razbrzdani jezik z delno ali popolnoma odsotnimi papilami. Pri 50 % bolnikov lahko zatipamo obojestransko povečani obušesni slinavki. Suho sluznico grla in sapnika opazimo pri 20 % bolnikov, le-ta je tudi razlog za kroničen suh kašelj in hripavost. Najpogostejša zunajžlezna pojava bolezni sta utrujenost in boleči sklepi, ki se pojavljata pri 70 % bolnikov. Raynaudov fenomen se pojavlja pri 30 % bolnikov (1, 2).
3. Pomisliti moramo še na druge vzroke, ki bi lahko povzročili simptomatiko suhih oči in ust. Med možne vzroke sodijo dehidracija, sarkoidoza, starostna atrofija žlez, stanje po obsevanju področja glave in vratu, psihološki dejavniki, Alzheimerjeva bolezen, amiloidoza, z imunoglobulinom (Ig) G4 povezana bolezen, okužba s HIV, okužba z virusom hepatitisa C (angl. *hepatitis C virus*, HCV), novotvorbe, sladkorna bolezen, neželeni učinki uživanja nekaterih zdravil (opioidi, triciklični antidepresivi, antihistaminiki, antiholinergiki, benzodiazepini, diuretiki itd.). Diferencialno diagnostično moramo pomisliti tudi na sistemski lupus eritematozus, revmatoidni artritis in tudi na druge vezivno-tkivne bolezni (1, 3).
4. Diagnoza Sjögrenovega sindroma je vedno klinična. Lahko pa si pomagamo z razvrstitvenimi merili za primarni Sjögrenov sindrom, ki sta jih leta 2016 sprejela Ameriško revmatološko združenje in Evropsko združenje za boj proti revmatizmu. Za diagnozo Sjögrenovega sindroma mora bolnik (1, 3, 4):
 - Skupno zbrati štiri točke ali več pri naslednjih razvrstitvenih merilih:
 - Žariščno limfocitno vnetje žlez slinavk ≥ 1 limfocitnim žariščem na 4 mm² (3 točke).
 - Prisotnost protiteles proti antigenu Ro (3 točke).
 - Schirmerjev test ≤ 5 mm v 5 min (na vsaj enem očesu) (1 točka).

- Van Bijsterveldov test ≥ 4 ali očesni barvni test ≥ 5 (na vsaj enem očesu) (1 točka).
- Nestimuliran pretok sline $\leq 0,1$ ml/min (1 točka).
- Izpolnjevati ustrezna vključitvena merila (prvo ali drugo):
 - Imeti mora izražene simptome suhosti oči ali ust. Merilo je izpolnjeno, če odgovori pritrdilno na vsaj eno od naslednjih petih vprašanj:
 - Ali imate več kot tri mesece vsak dan stalen občutek suhih oči?
 - Ali imate ponavljajoč se občutek peska ali mivke v očeh?
 - Ali uporabljate umetne solze več kot trikrat dnevno?
 - Ali imate več kot tri mesece vsak dan občutek suhih ust?
 - Ali pogosto pijete tekočino, da bi si pomagali pri požiranju suhe hrane?
 - Imeti mora postavljen sum na Sjögrenov sindrom na podlagi točkovnika ESSDAI (The European League Against Rheumatism Sjögren's Syndrome Disease Activity Index): prizadetost vsaj enega organskega sistema (pozitivna vsaj ena domena).
- Ne sme imeti izključitvenih meril:
 - anamneza obsevanja v predelu glave in vratu,
 - aktivna okužba s HCV,
 - aids,
 - sarkoidoza,
 - amiloidoza,
 - reakcija presadka proti gostitelju,
 - z IgG4 povezana bolezen.

Diagnostična metoda za dokazovanje fokalnega limfocitnega vnetja žlez slinavk je biopsija malih žlez slinavk. Za dokaz prisotnosti protiteles proti antigenu Ro naredimo imunoserološke preiskave. Ta protitelesa ima 60–70 % bolnikov, njihova prisotnost pa je povezana z zgodnejšim nastopom bolezni in večjo verjetnostjo zunajžlezne prizadetosti. Tudi bolniki z drugimi vezivnotkivnimi boleznimi imajo lahko prisotna ta protitelesa. S Schirmerjevim testom izmerimo izločanje solz s testnimi lističi. Navadno test izvajamo v odsotnosti lokalne anestezije in z njim merimo refleksno izločanje solz. Z Van Bijsterveldovim testom in z očesnim testom z barvilom Rose Bengal ovrednotimo poškodbo očesne veznice in roženice. Test, s katerim izmerimo nestimuliran pretok sline, traja 15 min, preiskovanec med testom pusti slino iztekati v merilni valj. Z njim izmerimo bazalno količino sline, ki se izloči iz vseh žlez slinavk (1, 3, 4).

5. Vzroka za nastanek bolezni ne poznamo. Med možne dejavnike prištevamo genetsko ozadje, dejavnike okolja in vplive hormonov. Obstaja povezava med primarnim Sjögrenovim sindromom in sistemom človeških levkocitnih antigenov (angl. *human leukocyte antigen*, HLA). V nastanek Sjögrenovega sindroma so verjetno vpleteni tudi virusi (HCV, virus Epstein-Barr in humani T-celični limfotropni virus (HTLV) 1). Ti lahko preko mehanizma molekularne mimikrije spremenijo toleranco organizma za lastne antigene in tako aktivirajo limfocite T ter sprožijo patološko aktivacijo naravne imunosti in interferonskih poti. Na živalskih modelih so dokazali, da lahko pomanjkanje estrogena vpliva na nastanek Sjögrenovega sindroma. Tudi patogeneza nastanka Sjögrenovega sindroma ni znana. V prisotnosti genetskega ozadja in okoljskih ali hormonskih sprožilcev pride do degranulacije žleznih celic ter sproščanja kemokinov in adhezijskih molekul. To spodbudi migracijo dendritičnih celic in limfocitov T in B v žleze. Dendritične celice proizvajajo veliko interferonov, kar povzroči prihod še večjega števila limfocitov

v tkivo, nato pa pride do njihove aktivacije. Poleg tega interferoni spodbudijo nastanek B-celičnega aktivacijskega dejavnika, ki spodbuja napačno dozorevanje limfocitov B, kar vodi v nastanek avtoaktivnih limfocitov B, ki lokalno izločajo avtoprotitelesa. Nastanejo imunski kompleksi med avtoantigeni in avtoprotitelesi, ki neprestano spodbujajo sintezo interferonov. Ti preko pozitivne povratne zveze nato še dodatno spodbujajo delitev in diferenciacijo limfocitov B, vzpostavi se začaran krog (1, 5).

6. Vzročno zdravljenje Sjögrenovega sindroma ne obstaja, zato je zdravljenje predvsem simptomatsko. Za lajšanje suhosti oči so na voljo umetne solze, protivnetne kapljice za oči, ki vsebujejo ciklosporin A, in zapora nosno-solznih kanalčkov s silikonskimi čepki, s čimer se upočasni odtekanje preostalih solz. Suhost ust si bolniki blažijo s pogostim pitjem in umetno slino. Poleg tega je zelo pomembno, da vzdržujejo dobro ustno higieno in redno obiskujejo zobozdravnika, saj so močno nagnjeni k razvoju zobne gnilobe. Tako suhost ust kot suhost oči lahko zdravimo tudi z zdravili, ki spodbujajo delovanje žlez z zunanjim izločanjem (sekretagogi). Taki zdravili sta pilokarpin hidroklorid, ki ga dajemo v odmerku 10–30 mg na dan, in cevimelin hidroklorid, ki ga dajemo trikrat dnevno po 30 mg. Ta zdravila pa imajo tudi številne neželene učinke, kot so slabost, prekomerno potenje, glavobol itd. Za zmanjševanje utrujenosti se priporoča redna telesna dejavnost. Paracetamol in nesteroidne antirevmatike predpišemo za zmanjševanje bolečin v sklepih. Pri kroničnem artritisu lahko uporabimo antimalarike, v primeru njihove neučinkovitosti pa metotreksat. Z glukokortikoidi in imunosupresivnimi zdravili zdravimo prizadetost pljuč, ledvic in drugih organskih sistemov, ki so prizadeti v sklopu Sjögrenovega sindroma. Če druga zdravila ne pomagajo, lahko predpišemo tudi rituksimab (1, 6).

LITERATURA

1. Hočevar A, Pirkmajer Perdan K. Sjögrenov sindrom. In: Košnik M, Štajer D, eds. *Interna Medicina*. Ljubljana: Buča; 2018. p. 1392–6.
2. Mavragani CP, Moutsopoulos HM. Sjögren syndrome. *CMAJ*. 2014; 186 (15): E579–E86.
3. Stefanski AL, Tomiak C, Pleyer U, et al. The diagnosis and treatment of Sjögren's syndrome. *Dtsch Arztebl Int*. 2017; 114 (20): 354–61.
4. Rischmueller M, Tieu J, Lester S. Primary Sjögren's syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2016; 30 (1): 189–220.
5. Nair JJ, Singh TP. Sjögren's syndrome: Review of the aetiology, pathophysiology & potential therapeutic interventions. *J Clin Exp Dent*. 2017; 9 (4): E584–E9
6. Strömbeck BE, Theander E, Jacobsson LT. Effects of exercise on aerobic capacity and fatigue in women with primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2007; 46 (5): 868–71.

Presejanje pri mlajših odraslih ni zmanjšalo razširjenosti spolno prenosljive okužbe s klamidijo

Lancet, oktober 2018

V nekaterih gospodarsko močnejših državah spodbujajo presejanje za genitalno okužbo z bakterijo *Chlamydia trachomatis*, vendar je glede njegove učinkovitosti precej pomislekov. Avstralski raziskovalci so zato zasnovali randomizirano kontrolirano raziskavo, v kateri so vpliv priložnostnega testiranja v osnovni zdravstveni dejavnosti na razširjenost okužbe s *C. trachomatis* preučili pri mlajših odraslih z avstralskega podeželja.

V raziskavo so zajeli manjša mesta, v katerih je živelo vsaj 500 moških in žensk, starih 16–29 let. V posameznem naključno izbranem mestu so izvajali bodisi program ambulantnega testiranja za *C. trachomatis* bodisi običajno zdravstveno obravnavo za to starostno skupino. Program testiranja za *C. trachomatis* je vključeval računalniške opomnike za izvajanje presejanja, pouk, plačila za izvajanje testiranja in povratne informacije o deležu vključenih preiskovancev. Zdravniki in drugo zdravstveno oseb-

je v ambulantah so razporeditev poznali, preiskovanci in laboratorijsko osebje, ki je izvajalo preiskave, pa ne.

V obdobju od decembra 2010 do septembra 2015 je bilo v raziskavo zajetih 26 krajev s 63 ambulantami, kjer so izvajali presejanje, in 26 krajev s 67 ambulantami, kjer so izvajali običajno obravnavo. V povprečno 3,1 leta so v raziskavo tako zajeli 93.828 preiskovancev, ki so jim opravili presejalno preiskavo, in 86.527 kontrolnih preiskovancev. Ocenjena razširjenost okužbe s *C. trachomatis* se je zmanjšala z izhodiščnih 5,0 % na 3,4 % v mestih, kjer so izvajali presejanje, in z izhodiščnih 4,6 % na 3,4 % v mestih, kjer niso izvajali presejanja. Razlika ni bila statistično značilna, raziskovalci pa so zaključili, da s tovrstnim programom najbrž ni mogoče doseči pomembnejšega zmanjšanja razširjenosti spolno prenosljive okužbe s *C. trachomatis*.

Dokazi o koristih statinov zunaj srca in ožilja neprepričljivi

Annals of Internal Medicine, oktober 2018

Vloga statinov v zdravljenju bolezni srca in ožilja temelji na prepričljivih dokazih in soglasju strokovnjakov o njihovi koristi. Mnoga poročila so ta zdravila povezovala tudi s koristnimi izidi pri drugih boleznih. Izsledki krovne metaanalize kažejo, da so dokazi o koristih statinov, ki presegajo njihov učinek na srce in ožilje, neprepričljivi.

Skupina raziskovalcev z Univerze v Edinburghu (Združeno kraljestvo) in iz drugih svetovnih središč je s poizvedbami po elektronskih bibliografskih virih zbrala podatke o objavljenih raziskavah in metaanalizah rezultatov raziskav za obdobje do maja 2018. V končni analizi so ovrednotili učinek zdravljenja s statini na 278 različnih izidov nepovezanih s srčno-žilnimi dogodki, iz 112 metaanaliz opazovalnih raziskav in 144 metaanaliz randomiziranih kontroliranih raziskav.

Analiza za opazovalne raziskave ni razkrila nobenega primera prepričljivega dokaza o povezavi statinov z opazovanimi izidi. V dveh primerih je šlo za zelo pomenljivo povezavo (zmanjšanje umrljivosti zaradi raka in zmanjšanje pogostosti akutnega

poslabšanja kronične obstruktivne pljučne bolezni), v 21 primerih za povezavo, ki nakazuje učinek, v 42 primerih pa za šibko povezavo z izidi, nepovezanimi s srčno-žilnimi dogodki. Analiza za randomizirane kontrolirane raziskave je pokazala, da je le zmanjšanje umrljivosti pri bolnikih s kronično boleznijo ledvic doseglo zadostno raven prepričljivosti brez nakazane pristranskosti. Opazovalne raziskave so nakazale, da so statini povezani z večjim tveganjem za pojav sladkorne bolezni in miopatiije, randomizirane raziskave pa niso razkrile statistično pomembne povezave med statini in miopatiijo, bolečinami v mišicah in rabdomiolizo.

Raziskovalci so v zaključku poročila opozorili, da nekatere raziskave s pomembnimi podatki morda niso bile zajete v metaanalize in da je ocena prepričljivosti temeljila na predpostavkah in arbitrarno določenih merilih za potrebe te raziskave. Kljub temu so mnenja, da odsotnost prepričljivih dokazov o učinkih statinov zunaj srca in žilja utruje veljavnost sodobnih priporočil za uporabo teh zdravil.

Izgorelost zdravnikov ogroža bolnike

JAMA Internal Medicine, oktober 2018

Zavedanje, da je zdravnikovo dobro počutje kazalec kakovosti zdravstvenega sistema, je vse večje. Tudi dokazov, da je izgorelost zdravnikov povezana z manj varno in manj kakovostno oskrbo, je vse več. Dodatna spoznanja v zvezi s tem so prispevali raziskovalci iz več akademskih središč v Združenem kraljestvu in Grčiji, ki so objavili izsledke sistematičnega pregleda literature z metaanalizo rezultatov izbranih 47 opazovalnih raziskav, ki so preučevale izgorelost zdravnikov.

V raziskave, ki so jih poiskali z elektronskimi bibliografskimi viri, je bilo vključenih 42.473 zdravnikov (59% moških), od katerih jih je bila polovica stara vsaj 38 let (razpon 27–53 let). Statistične analize so potrdile, da je bila izgorelost povezana z večjim tveganjem za incidente, povezane z varnostjo bolnikov (razmerje obetov 1,96; 95-odstotni

interval zaupanja 1,59–2,40), slabšo kakovostjo oskrbe zaradi nizke stopnje strokovnosti (2,31; 1,87–2,85) in manjšim zadovoljstvom bolnikov (2,28; 1,42–3,68). Raziskovalci so poudarili, da je bila stopnja raznolikosti raziskav velika, metodološka kakovost pa majhna do srednja. Povezava med izgorelostjo je bila pri mlajših zdravnikih na začetku poklicne poti močnejša kot pri starejših.

Izgorelost zdravnikov ogroža oskrbo bolnika, so v zaključku poročila zapisali raziskovalci. Zmanjšanje tovrstnega ogrožanja bolnikov bi morali razumeti kot temeljni cilj zdravstvene politike v vseh okoljih. Zdravstvene ustanove bi morale po njihovem prepričanju vložiti več truda v izboljšanje dobrega počutja zdravnikov, posebej tistih na začetku poklicne poti.

Bolniki, ki iščejo nujno zdravniško pomoč zaradi zvišanega krvnega tlaka, redko sprejeti v bolnišnico

Annals of Emergency Medicine, oktober 2018

Ljudje, ki si doma izmerijo (močno) zvišan krvni tlak, se vse pogosteje odločijo za nujen posvet z zdravnikom, kar obremenjuje centre za nujno zdravniško pomoč. Kanadski raziskovalci so razsežnosti tega pojava preučili v retrospektivni opazovalni raziskavi in rezultate objavili v oktobrski številki revije *Annals of Emergency Medicine*.

Raziskovalci so zbrali podatke o bolnikih, ki so v obdobju od aprila 2010 do marca 2011 iskali zdravniško pomoč na urgentnem oddelku katere od petih splošnih ali terciarnih bolnišnic v kanadski provinci Ontario in je bila kot glavna diagnoza zanje zabeležena arterijska hipertenzija. V analizo so zajeli podatke za 1.508 bolnikov. Njihova

povprečna starost je bila $63,3 \pm 16,0$ leta, približno 60 % je bilo žensk. V rednem delovnem času (8.–16. ure) jih je bilo obravnavanih približno 40 %. Srednja vrednost krvnega tlaka ob sprejemu na urgentni oddelek je bila 182/97 mmHg, najpogostejši simptomi pa so bili glavobol (38,0 %), omotičnost (29,5 %) in bolečina v prsih (16,3 %). Zvišan krvni tlak si je 40,9 % bolnikov izmerilo doma; pri 8,3 % bolnikov so zvišan krvni tlak izmerili v lekarni, 13,3 % bolnikov je na urgentni oddelek zaradi zvišanega krvnega tlaka napotil zdravnik, za 37,5 % bolnikov pa podatek o napotitvi ni bil zabeležen.

V bolnišnico je bilo skupaj sprejetih 109 bolnikov (7,2 %). Od bolnikov, ki so si zvišan krvni tlak izmerili doma oz. so jim ga izmerili v lekarni, jih je bilo v bolnišnico sprejetih 3,1 %, od bolnikov, ki jih je na urgentni

oddelek napotil zdravnik oz. bolnikov, za katere podatek o napotitvi ni bil znan, pa so jih v bolnišnico sprejeli 11,9 % oz. 11,0 %. Umrljivost v dveh letih po obravnavi na urgentnem oddelku je bila v razponu 5,3–6,5 %. Od 92,8 % bolnikov, ki niso bili sprejeti v bolnišnico, jih je 11 % v enem letu znova iskalo nujno zdravniško pomoč zaradi povišanega krvnega tlaka.

Merjenje krvnega tlaka doma ima nedvomne koristi v obvladovanju kronično zvišanega krvnega tlaka, so raziskovalci zapisali v zaključku, cena za te koristi pa je tudi večja obremenitev urgentnih centrov. Izsledki po mnenju raziskovalcev potrjujejo, da je pri bolnikih z zvišanim krvnim tlakom brez znakov okvare tarčnih organov redko potreben sprejem v bolnišnico, zato bi morali večino teh bolnikov najprej obravnavati v osnovni zdravstveni dejavnosti.

Večji vnos kofeina s kavo povezan z manjšo pojavnostjo rozacee?

JAMA Dermatology, oktober 2018

Nekateri učinki kofeina bi lahko imeli imele določeno vlogo v patofiziologiji rozacee, zato ga v nekaterih poročilih omenjajo kot sprožilec zagona te bolezni. Izsledki dosedanjih epidemioloških raziskav so bili neskladni tako glede velikosti kot glede smeri vpliva kofeina in vnosa kave na tveganje za pojav rozacee. Raziskovalci iz več središč v ZDA in na Kitajskem so to povezavo ovrednotili z analizo podatkov, zbranih v prospektivni kohortni raziskavi Nurses' Health Study II v letih 1991–2005.

V okviru omenjene raziskave so vsaka štiri leta zbirali podatke o pitju kave, čaja in gaziranih pijač ter uživanju čokolade. Analiza je zajela 82.737 preiskovank, pri katerih so v skupaj 1.120.051 oseba-letih sledenja zabeležili 4.945 novoodkritih primerov rozacee.

Statistični izračun, v katerem so bili upoštevani medsebojni vplivi številnih dejavnikov, je pokazal obratno sorazmerje med vnosom kofeina in tveganjem za pojav rozacee. Slednje je bilo v petini preisko-

vank z največjim vnosom kofeina za 24 % manjše kot v petini z najmanjšim vnosom kofeina (razmerje tveganj 0,76; 95-odstotni interval zaupanja 0,69–0,84). Podobno so ugotovili tudi glede vnosa kofeina s kavo, kjer je bilo tveganje za pojav rozacee pri preiskovankah, ki so v povprečju popile vsaj štiri odmerke kave dnevno, za 23 % manjše kot pri preiskovankah, ki so v povprečju popile manj kot en odmerek kave mesečno (0,77; 0,69–0,87). Vnos kave brez kofeina in vnos kofeina iz drugih virov (čaj, gazirane

pijače, čokolada) ni bil povezan s pojavnostjo rozacee.

Raziskovalci so poudarili, da so tako podatki o uživanju kofeina kot podatki o diagnozi rozacee temeljili na navedbah preiskovank in je zato lahko prišlo do pristranskosti pri priklicu, in navedli še nekaj drugih zadržkov glede zanesljivosti rezultatov. Zaključili pa so, da izsledki ne govorijo v prid omejevanju vnosa kofeina kot ukrepa za preprečevanje pojava rozacee.

Deksametazon ne zmanjša pogostosti višinske bolezni pri bolnikih s kronično obstruktivno pljučno boleznijo

CHEST, oktober 2018

Bolniki s kronično obstruktivno pljučno boleznijo so bolj nagnjeni k akutni višinski bolezni in drugim z večjo nadmorsko višino povezanim škodljivim učinkom za zdravje. Randomizirana kontrolirana raziskava, ki so jo opravili švicarski raziskovalci iz Univerzitetne bolnišnice v Zürichu, je pokazala, da tveganja za te zaplete ob vzponu na večjo nadmorsko višino ni mogoče zmanjšati z zdravljenjem z deksametazonom.

Raziskava je zajela 118 bolnikov s kronično obstruktivno pljučno boleznijo (KOPB) stopnje 1 ali 2 po GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) razvrstitvi, ki so živeli na nadmorski višini največ 800 m. Vsi bolniki so se povzpeli na

nadmorsko višino 3.100 m in tam dva dni bivali v višinski kliniki. Po naključnostnem izboru so jih razporedili v dve skupini, ki sta pred vzponom in med bivanjem na višini prejemale 8 mg deksametazona dnevno oz. ustrezen placebo.

Rezultati so pokazali, da med skupinama ni bilo statistično značilne razlike v pojavnosti akutne višinske bolezni oz. in drugih z višino povezanih zapletov, čeprav je bila v skupini, ki je prejemale deksametazon, nekoliko manjša (22 % proti 24 %). Ugotovili pa so, da je zdravljenje z deksametazonom bolj kot placebo ublažilo z višino povezano znižanje delnega tlaka kisika v arterijski krvi.

Prisotnost kortikalnih simptomov pri akutni možganski kapi razmeroma zanesljiv kazalec zapore velike žile

Stroke, oktober 2018

Pri bolnikih z akutno ishemično možgansko kapjo zaradi zapore velike žile je pomembno, da so čim prej prepeljani v središče, kjer je na voljo znotrajžilno zdravljenje. Preprosta in hitra triaža v predbolnišnični obravnavi je zato ključnega pomena. Nemški raziskovalci so z retrospektivno analizo podatkov za 543 bolnikov, ki so bili obravnavani zaradi suma na možgansko kap, ugotovili, da je že prisotnost kortikalnih simptomov sama po sebi razmeroma zanesljiv kazalec zapore velike žile.

Polovica bolnikov je bila starejša od 74 let (razpon med skrajnima četrtinama 62–81 let), srednja vrednost izhodiščne ocene teže možganske kapi po NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) je bila

5 (2–13). Ishemično možgansko kap so ugotovili pri 504 bolnikih, pri 181 je šlo za zaporo velike žile.

Statistična analiza je pokazala, da je bila prisotnost katerega koli kortikalnega simptoma napovednik zapore velike žile z 91 % občutljivostjo in 70 % specifičnostjo, kar je bilo zanesljivejše od prisotnosti hemipareze, ki je imela 85 % občutljivost in 53 % specifičnost. V nasprotju z nekaterimi drugimi točkovniki in NIHSS je triaža, ki temelji na prisotnosti kortikalnih simptomov, preprosta in hitra. Prisotnost katerega koli kortikalnega simptoma je po njihovem mnenju zadostna za takojšnje napotitev v središče, ki opravlja mehansko trombektomijo.

Zdravljenje z minociklinom ne ublaži negativnih simptomov pri bolnikih z zgodnjo shizofrenijo

Lancet Psychiatry, oktober 2018

Obvladovanje negativnih simptomov, kot so odmaknjenost od družbe, samozanemarjanje, čustvena odmaknjenost in izguba motivacije, ostaja pri bolnikih s shizofrenijo klinični izziv. Temeljne raziskave so te simp-

tome povezale s strukturnimi spremembami, povezanimi z atrofijo možganov, kar je spodbudilo hipoteze, da bi bilo mogoče razvoj negativnih simptomov zaustaviti z zgodnjim zdravljenjem z nevroprotektivnimi

zdravili. Eno takih zdravil je antibiotik minociklin. Randomizirana kontrolirana raziskava BeneMin je bila zato zasnovana z namenom ovrednotiti korist zdravljenja s tem zdravilom in izboljšati razumevanje mehanizma njegovega učinka.

Raziskava je potekala v 12 večjih britanskih javnozdravstvenih sistemih in je zajela 207 bolnikov, pri katerih so ugotovili shizofrenijo do pet let prej in so imeli v tem obdobju vseskozi pozitivne simptome bolezni. Približno 75 % je bilo moških, njihova povprečna starost ob vstopu v raziskavo je bila nekaj več kot 25 let. Bolnike so naključnostno razporedili v dve skupini. Ena je pričela zdravljenje z minociklinom v odmerku 200 mg dnevno prvih 14 dni in ga nato nadaljevala z odmerkom 300 mg dnevno, druga, kontrolna, pa je jemala ustrezen placebo. Zdravljenje je bilo dvojno zaslepljeno in je trajalo 12 mesecev. Njegov učinek so sledili s točkovnikom PANSS (Positive and Negative Syndrome Scales) ob rednih kontrolnih pregledih ter s slikovno in funkcijsko MRI.

Po 12 mesecih zdravljenja med skupino, ki je prejela minociklin, in skupino,

ki je prejela placebo, ni bilo razlike v oceni negativnih simptomov. Ocena po točkovniku PANSS je bila sicer za 0,19 točke v prid minociklina, a ob širokem 95-odstotnem intervalu zaupanja (-1,23-0,85) ni bila statistično značilna ($p = 0,73$). Med skupinama tudi ni bilo statistično značilne razlike v pogostosti resnih neželenih dogodkov, večino ma je šlo za poslabšanje duševnega stanja. Slikovna in funkcijska diagnostika nista pokazali učinka minociklina in tudi ne napredujočih nevropatskih ali vnetnih sprememb, ki bi bile povezane z negativnimi simptomi.

Raziskovalci so v zaključku poročila zapisali, da je bila BeneMin največja randomizirana kontrolirana raziskava zdravljenja z minociklinom v teh kliničnih okoliščinah doslej. Rezultat je bil prepričljivo negativen in po mnenju raziskovalcev ne pušča dvoma, da zdravljenje z minociklinom pri bolnikih z zgodnjo shizofrenijo ni primerno. Funkcijske študije, ki so jih opravili v okviru raziskave, pa kažejo, da tudi nadaljnje raziskave zdravljenja teh bolnikov z minociklinom niso smiselne.

Obetavni rezultati zdravljenja bolnikov z ne-Hodgkinovim limfomom z monoklonskim zaviralcem CD47

The New England Journal of Medicine, november 2018

Zdravljenje s humaniziranim monoklonskim protitelesom Hu5F9-G4, ki zavira površinski antigen CD (angl. *cluster of differentiation*) 47 in tako spodbuja fagocitozo

tumorskih celic, ima v kombinaciji z rituksimabom pri bolnikih z B-limfocitnim ne-Hodgkinovim limfomom obetavne učinke brez klinično pomembnejših varnostnih

zadržkov. To je ključna ugotovitev raziskave, opravljene v začetni fazi kliničnega preizkušanja tega zdravila.

S Hu5F9-G4 so zdravili 22 bolnikov s trdovratnim in na zdravljenje z rituksimabom neodzivnim ne-Hodgkinovim limfomom, od katerih jih je imelo 15 difuzni velikocelični B-limfocitni limfom, 7 pa folikularni limfom. Bolniki so poleg rituksimaba najprej prejeli začetni odmerek 1 mg/kg, nato pa so Hu5F9-G4 prejeli v tedenskih odmerkih 10–30 mg/kg. Neželeni učinki, ki so jih za beležili med zdravljenjem, so bili večino ma stopnje 1 ali 2, najpogosteje je šlo za anemijo in za reakcije na intravensko infuzijo zdravila. Neželeni učinki, zaradi kate-

rih bi bilo treba zmanjšati odmerke, so bili redki.

Za nadaljevanje raziskave so izbrali odmerek 30 mg/kg, s katerim so dosegli skoraj 100-odstotno zasedenost CD47 receptorjev na rdečih in belih krvničkah v krvi. Objektivni odgovor na zdravljenje so dosegli pri 50 % bolnikov, pri 36 % bolnikov je bil odgovor na zdravljenje popoln. Ta deleža sta bila pri bolnikih s folikularnim limfomom (71 % in 43 %) večja kot pri bolnikih z difuznim velikoceličnim B-limfocitnim limfomom (40 % in 33 %). Po srednjem času sledenja 8,1 meseca oz. 6,2 meseca je odgovor še vztrajal pri 91 % bolnikov.

Vreme povezano s tveganjem za pojav miokardnega infarkta

JAMA Cardiology, november 2018

Vremenske razmere, predvsem mrzlo in vetrovno vreme, so povezane z večjo pogostostjo akutnega miokardnega infarkta, so zapisali raziskovalci iz več središč na Švedskem. Ugotovitve temeljijo na analizi podatkov, prospektivno zbranih v švedskem nacionalnem koronarnem registru SWEDEHEART, in podatkov nacionalnega meteorološkega zavoda.

Raziskovalci so preučili podatke za več kot 280.000 bolnikov, ki so bili v letih 1998–2013 sprejeti v koronarno enoto zaradi miokardnega infarkta, med njimi tudi 92.044 bolnikov, ki so imeli akutni miokardni infarkt z dvigom spojnice ST. Popolni meteorološki podatki so bili na voljo za 294.029 oz. nekaj več kot 97 % bolnikov.

Izračuni so pokazali, da se je pojavnost miokardnega infarkta povečevala z zniževanjem temperature zraka, zniževanjem zračnega tlaka, povečevanjem hitrosti vetra in krajšanjem sončnega dela dneva. Najbolj statistično trdna je bila povezava s temperaturo zraka, saj se je tveganje za akutni miokardni infarkt z vsakim dvigom temperature za 1 standardni odklon (7,4 °C) zmanjšalo za 2,8 % (razmerje pojavnosti 0,972; 95-odstotni interval zaupanja 0,967–0,977). Raziskovalci so poudarili, da so bili rezultati skladni v vseh podskupinah in v vseh švedskih zdravstvenih regijah ter v skupini bolnikov z infarktom z dvigom spojnice ST podobni kot v skupini bolnikov z infarktom brez dviga spojnice ST.

Seznam diplomantov, ki so diplomirali na Medicinski fakulteti v Ljubljani od 21. novembra 2018 do 21. januarja 2019

Diplomanti medicine

Sotler Tadeja	3. 12. 2018	Žiberna Karmen	12. 12. 2018
Gregorc Petra	5. 12. 2018	Zorman Matjaž	17. 12. 2018
Intihar Urška	5. 12. 2018	Colnar Hrastar Nika	18. 12. 2018
Šebat Ana	5. 12. 2018	Majcen Maša	19. 12. 2018
Bolha Anja	7. 12. 2018	Alatič Jan	20. 12. 2018
Jonke Benjamin	7. 12. 2018	Mekiš Jana	28. 12. 2018
Lindič Maja	11. 12. 2018	Žitek Klemen	28. 12. 2018
Gostinčar Aljaž	12. 12. 2018	Žagar Tea	3. 1. 2019
Krč Manca	12. 12. 2018	Treven Andraž	7. 1. 2019
Lipovšek Špela	12. 12. 2018	Sotošek Nika	14. 1. 2019
Medvešek Luka	12. 12. 2018	Kecelj Mojca	15. 1. 2019
Recek Eva	12. 12. 2018	Petrič Tjaša	18. 1. 2019
Veronese Airin	12. 12. 2018		

Diplomanti dentalne medicine

Nunčič Maja	10. 12. 2018	Skomina Luka	17. 12. 2018
Hrovat Pia	12. 12. 2018	Krese Klara	21. 12. 2018

Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Šrot Tajda	23. 11. 2018	Haračič Ksenija	6. 12. 2018
Prelog Sandra	29. 11. 2018	Orešič Sara	20. 12. 2018
Poredoš Sanja	30. 11. 2018	Pulko Nejc	4. 1. 2018

Navodila avtorjem

Medicinski razgledi so recenzirana strokovna revija z več kot 50-letno tradicijo, ki izhaja štirikrat letno. V reviji so objavljeni raziskovalni in pregledni članki z vseh področij biomedicinskih znanosti ter klinični primeri. Namen revije je ciljnemu bralstvu, predvsem študentom splošne in dentalne medicine ter družinskim zdravnikom v splošni praksi, v slovenskem jeziku posredovati najnovejša dognanja na področju biomedicine. S tem želimo pripomoči k napredku in uveljavljenosti slovenske biomedicinske znanosti. Cilj uredništva je objavljati kakovostne znanstvene prispevke, ne glede na vrsto in tematiko, pri čemer dajemo prednost raziskovalnim člankom in zanimivim kliničnim primerom iz prakse.

PRIPRAVA PRISPEVKA

Prispevki morajo biti pripravljani v skladu s priporočili, ki jih objavlja International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) – Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals. Priporočila so dostopna na <http://www.icmje.org/recommendations/>

Uredništvo sprejema samo prispevke, ki še niso bili in ne bodo objavljeni drugje. Izjemoma lahko uredništvo presodi, da v uredniški postopek sprejme že objavljen oz. podoben prispevek, za katerega je koristno, da doseže najširši krog bralstva (npr. klinične smernice in priporočila), pri čemer morajo avtorji to uredništvu sporočiti ob oddaji prispevka in zagotoviti pristanek odgovornega urednika revije, kjer je prispevek že bil objavljen. Vse oddane prispevke uredništvo pregleda s programsko opremo za odkrivanje plagiatov. Dele prispevka, ki so povzeti po drugi literaturi (predvsem slike in tabele), mora spremljati dovoljenje avtorja in založnika prispevka za reprodukcijo.

Jezik besedila

Zaželeno je, da so prispevki v slovenskem jeziku, pri čemer jih mora obvezno spremljati prevod izvlečka (angl. *abstract*) in ključnih besed (angl. *key words*) v angleščini.

Avtorstvo

Pogoji za avtorstvo so natančno opisani v priporočilih ICMJE, ključni pa so naslednji kriteriji:

- znatno sodelovanje pri zasnovi in oblikovanju prispevka oz. pri zbiranju, analizi in interpretaciji podatkov,
- zasnovanje osnutka prispevka oz. pregled vsebine le-tega,
- pregled in strinjanje s končno verzijo prispevka in
- strinjanje s prevzemom odgovornosti za prispevek in pripravljenost k razreševanju vseh vprašanj, povezanih z natančnostjo in integriteto prispevka.

Avtorji prispevka morajo izpolnjevati vse štiri zgoraj navedene kriterije. Samo zbiranje podatkov ne zadostuje za avtorstvo. Kakršnekoli spremembe v avtorstvu prispevka po oddaji prispevka uredništvu morajo s podpisom potrditi vsi avtorji prvotno oddanega prispevka.

Etična načela in navzkrižje interesov

Pri prispevkih, ki obravnavajo raziskave na ljudeh ali živalih, mora biti v poglavju metode navedeno ustrezno soglasje pristojne komisije oz. ustanove, da je raziskava etično sprejemljiva in v skladu z načeli Helsinške deklaracije oz. ostalimi pomembnimi dokumenti, ki obravnavajo etičnost biomedicinskih raziskav. Za klinične študije (angl. *clinical trial*) je zaželeno registracija študije pri enem od javnih registrov, odobrenih s strani ICMJE, v skladu s standardi Svetovne zdravstvene organizacije. Več informacij,

vključno z definicijo klinične študije, je dostopnih na <http://www.who.int/ictrp/en/>

Obvezno je, da avtorji kliničnih primerov (angl. *case report*) pridobijo privolitev bolnikov (oz. če to ni mogoče, bližnjih svojcev) za objavo kliničnega primera. Privolitev ni potrebna le v primeru, če lahko avtorji prispevka zanesljivo zagotovijo, da istovetnost bolnika ni ugotovljiva.

Avtorji so uredništvu dolžni posredovati informacije o vseh (finančnih, osebnih, akademskih itd.) navzkrižjih interesov (angl. *conflict of interest*), ki bi lahko vplivala na objektivnost in verodostojnost prispevka.

Struktura prispevka

Prispevek naj bo pripravljen v programskem paketu Microsoft Word® ali OpenOffice.org (datoteke s končnicama .doc ali .docx), pisava naj bo Times New Roman, velikost črk 12 pt, razmik med vrsticami 1,5 in širina robov 2,5 cm. Skupaj z naslovno stranjo in literaturo naj prispevek obsega največ 30 strani. Prispevek mora obvezno imeti naslovno stran, izvlečka in ključne besede v slovenskem in angleškem jeziku ter seznam literature. Raziskovalni članki naj bodo členjeni na naslednja poglavja: izhodišča, metode, rezultati in razprava. Pregledni članki in klinični primeri so lahko zasnovani drugače, pri čemer naj bo delitev na poglavja in podpoglavja jasno razvidna, obvezno pa morajo vsebovati uvod in zaključek.

Naslovna stran

Obsega naj naslov prispevka v slovenskem in angleškem jeziku, imena avtorjev z natančnimi akademskimi in strokovnimi naslovi, kontaktnim elektronskim naslovom ter popoln naslov ustanove, inštituta ali klinike, kjer je prispevek nastal. Naslov naj bo kratek in natančen, opisen in ne trdilen (povedi v naslovih niso dopustne). Navedeni naj bodo viri finančnih sredstev, opreme, zdravil itd., potrebnih za izvedbo raziskave, in izjava avtorjev o možnih navzkrižjih interesov.

Izvleček in ključne besede

Druga stran naj obsega izvlečka v slovenskem in angleškem jeziku. Izvlečka naj obsegata od 150 do 250 besed. Izvleček raziskovalnega članka naj bo strukturiran (izhodišča, metode, rezultati in zaključki), izvlečki ostalih prispevkov so nestrukturirani. V izvlečku naj bo predstavljen osnovni namen prispevka, vsebinsko naj povzema in ne le našteva bistvene vsebine prispevka. Izvleček ne sme vsebovati kratic in okrajšav. Avtorji naj navedejo do sedem ključnih besed, ki natančneje opredeljujejo vsebino prispevka.

Izhodišča, uvod

V izhodiščih (pri raziskovalnih člankih) oz. uvodu (pri preglednih člankih in kliničnih primerih) avtorji predstavijo temo prispevka v logičnem zaporedju, od širšega konteksta in trenutno veljavnih dejstev, do ožje opredeljenega specifičnega problema oz. novih spoznanj, ki jih želijo predstaviti v prispevku (t. i. struktura lijaka). Pri raziskovalnih člankih mora biti v izhodiščih jasno oblikovana hipoteza.

Metode

V poglavju metode avtorji opišejo protokol, s katerim so želeli razjasniti zastavljeni problem oz. potrditi hipotezo. Opis protokola mora biti dovolj natančen in temeljit, da bi bilo enako raziskavo možno ponoviti. Avtorji morajo navesti tip in proizvajalca opreme ter imena zdravilnih učinkovin, uporabljenih v raziskavi. Prav tako morajo navesti statistične metode in programsko opremo, ki je bila uporabljena za analizo podatkov. Obvezna je izjava o etični ustreznosti raziskave (več podrobnosti najdete v poglavju Etična načela in navzkrižje interesov).

Rezultati

V besedilu poglavja rezultati avtorji predstavijo glavne ugotovitve raziskave oz. odgovor na raziskovalno vprašanje, podrob-

ne podatke pa podajo v tabelah ali slikah. Avtorji se morajo izogibati podvajanju podatkov iz tabel ali slik v besedilu. P-vrednosti je treba podati najmanj na tri decimalke natančno.

Razprava, zaključek

Razprava ni namenjena ponovnemu navajanju rezultatov, temveč njihovi interpretaciji in primerjavi s sorodnimi objavami v literaturi. Treba je podati zaključek (pri preglednih člankih in kliničnih primerih naj bo to samostojno poglavje), kjer avtorji razpravljajo o uporabnosti in pomembnosti svojega prispevka ter možnih usmeritvah za prihodnje delo.

Tabele

Tabele naj bodo smiselno vstavljene v besedilo prispevka. Ločeno jih oštevilčite po vrstnem redu, na vsako tabelo se je treba sklicevati v besedilu. Nad tabelo sodi spremno besedilo, ki naj vsebuje zaporedno številko tabele in kratek naslov, pojasnjene naj bodo tudi vse kratice, okrajšave in nstandardne enote, ki se pojavljajo v tabeli.

Slike

Slike morajo biti profesionalno izdelane ali fotografirane. Slike sprejemamo samo v digitalni obliki in samo v kvaliteti, primerni za tisk (300 DPI). Sprejemamo slike v rastrskih zapisih (datoteke s končnicami .jpeg, .tiff, .png, .gif itd.) ali v vektorskem zapisu (datoteke s končnicami .ai, .eps, .cdr itd.). Preproste sheme lahko narišete tudi s pomočjo programskega paketa Microsoft Word®. Črke, številke ali simboli na sliki morajo biti jasni, enotni in dovolj veliki, da so berljivi tudi na pomanjšani sliki. Fotografijam, na katerih se lahko ugotovi istovetnost bolnika, obvezno priložite pisno dovoljenje bolnika.

Na vsako sliko se je treba sklicevati v besedilu prispevka. Slik ne vstavljajte le v besedilo prispevka, ampak jih posredujte tudi v samostojnih datotekah, poimeno-

nih z zaporedno številko slike in imenom prvega avtorja. Pod vsako sliko morate obvezno dodati spremno besedilo, ki naj vsebuje zaporedno številko slike, naslov slike in potrebno razlago vsebine. Slika skupaj s spremnim besedilom mora biti razumljiva tudi brez branja ostalega besedila. Pojasniti morate vse okrajšave na sliki. Če imate kakršnekoli dvome glede kakovosti slik, se predhodno posvetujte z uredništvom.

Merske enote

V besedilu uporabljajte enote, ki so v skladu z mednarodnim sistemom enot (SI).

Kratice in okrajšave

V naslovih (pod)poglavij in izvlečkih naj ne bo kratic. Na mestu, kjer se kratica prvič pojavi v besedilu, naj bo le-ta polno izpisana, kratica pa naj bo napisana v oklepaju. Izjema so mednarodno veljavne oznake merskih enot in splošno uveljavljene okrajšave (3D, aids, AMP, ATP, cAMP, cGMP, CT, DNA, EKG, EUR, GMP, GTP, HIV, MRI, RNA, RTG, UZ, ZDA).

Literatura

Vsako navajanje trditve ali dognanj drugih morate podpreti z referenco. Reference v besedilu, slikah in tabelah navedite ležeče v oklepaju z arabskimi številkami na koncu citirane trditve, pred piko oz. dvopičjem (t. i. Vancouvrski sistem citiranja). Reference naj bodo v besedilu oštevilčene po vrstnem redu, tako kot se pojavljajo. Reference, ki se pojavljajo samo v tabelah ali slikah, naj bodo oštevilčene tako, kot se bodo pojavile v besedilu. Seznam citirane literature naj bo na koncu prispevka. Literaturo citirajte po navodilih, ki jih navaja ameriška National Library of Medicine v vodiču Citing Medicine (dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>), za pomoč pri citiranju imen revij priporočamo uporabo spletnega portala PubMed (dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). V citatu navedite vse avtorje, le v primeru, da so avtorji več kot

trije, navedite le prve tri in pripišite et al. Isto velja za navajanje urednikov knjig.

V nadaljevanju navajamo nekaj primerov pravilnega citiranja literature:

Članek v reviji

Petek Šter M, Švab I. Bolniki s sočasnimi boleznimi v družinski medicini. *Med Razgl.* 2008; 48 (2): 205–11.

Bajuk Studen K, Preželj J, Kocjan T, et al. Mehanizmi srčno-žilne ogroženosti žensk s sindromom policističnih ovarijev. *Zdrav Vestn.* 2009; 78: 129–35.

Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, et al. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol.* 2005; 62 (1): 112–6.

Članek v reviji, kjer je avtor organizacija

American Diabetes Association. Diabetes update. *Nursing.* 2003; Suppl: 19–20, 24.

Volumen s suplementom

Vesel S. Spremembe na srcu pri Kawasaki bolezni. *Med Razgl.* 2002; 41 Suppl 2: 139–43.

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1994; 102 Suppl 2: 275–82.

Številka s suplementom

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol.* 1996; 23 (1 Suppl 2): 89–97.

Posamezni deli članka (izvlečki, pisma uredništvu ipd.)

Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [izvleček]. *Kidney Int.* 1992; 42: 1285.

Jackson B, Fleming T. A drug is effective if better than a harmless control [pismo uredništvu]. *Nature.* 2005; 434 (7037): 1067.

Knjiga

Ahčan U. Prva pomoč: priročnik s praktičnimi primeri. Ljubljana: Rdeči križ Slovenije; 2007.

Jenkins PF. Making sense of the chest x-ray: a handson guide. New York: Oxford University Press; 2005.

Eyre HJ, Lange DP, Morris LB. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; c2002.

Advanced Life Support Group. Acute medical emergencies: the practical approach. London: BMJ Books; 2001.

Poglavje v knjigi

Možina M, Jamšek M, Šarc L, et al. Zastrupitve. In: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D, eds. *Interna medicina.* Ljubljana: Littera picta; 2005. p. 1143–507.

Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, ed. *The cat: diseases and clinical management.* New York: Churchill Livingstone; 1989. p. 229–332.

Kone BC. Metabolic basis of solute transport. In: Brenner BM, Rector FC, eds. *Brenner and Rector's the kidney.* 8th ed. Vol. 1. Philadelphia: Saunders Elsevier; c2008. p. 130–55.

Poročila s kongresov

Ferreira de Oliveira MJ, ed. Accessibility and quality of health services. Proceedings of the 28th Meeting of the European Working Group on Operational Research Applied to Health Services (ORAHS); 2002 Jul 28–Aug 2; Rio de Janeiro, Brazil. Frankfurt (Germany): Peter Lang; c2004.

10th International Psoriasis Symposium; 2004 Jun 10–13; Toronto, ON. Chicago: Skin Disease Education Foundation; 2004.

Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, et al. Canabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, eds. Proceedings of the 10th World Congress on Pain; 2002 Aug 17–22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003. p. 437–68.

Doktorska in magistrska dela, raziskovalne naloge

Šabovič M. Mehanizem fiziološkega in farmakološkega raztapljanja krvnih strdkov [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 1992.

Liu-Ambrose TY. Studies of fall risk and bone morphology in older women with low bone mass [doktorsko delo]. Vancouver (BC): University of British Columbia; 2004.

Weisbaum LD. Human sexuality of children and adolescents: a comprehensive training guide for social work professionals [magistrsko delo]. Long Beach (CA): California State University, Long Beach; 2005.

Pravne listine in zakoni

Zakon o zdravniški službi 1999. Uradni list RS št. 98/1999.

Internetna stran

AMA: helping doctors help patients [internet]. Chicago: American Medical Association; c1995–2007 [citirano 2007 Feb 22]. Dosegljivo na: <http://www.ama-assn.org/>

Članek na internetu

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a casecontrol study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [internet]. 2006 [citirano 2007 Jan 5]; 27 (1): 347. Dosegljivo na: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>

Knjiga na internetu

Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, et al., eds. *Harrison's online* [internet]. 16th ed. Colum-

bus (OH): McGraw-Hill Companies; c2006 [citirano 2006 Nov 20]. Dosegljivo na: <http://www.accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=4>

Podatkovna baza na internetu

Online Archive of American Folk Medicine [internet]. Los Angeles: Regents of the University of California. 1996 [citirano 2007 Feb 1]. Dosegljivo na: <http://www.folkmed.ucla.edu/>

Članek na CD-ju, DVD-ju ipd.

Kauffman CA, Bonilla HF. Trends in antibiotic resistance with emphasis on VRE. *FPR* [CD-ROM]. 1998; 20 (10).

Knjiga na CD-ju, DVD-ju ipd.

Kacmarek RM. *Advanced respiratory care* [CD-ROM]. Verzija 3.0. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; c2000.

Računalniški program na CD-ju, DVD-ju ipd.

Meader CR, Pribor HC. *DiagnosisPro: the ultimate differential diagnosis assistant* [CD-ROM]. Verzija 6.0. Los Angeles: MedTech USA; 2002.

Neobjavljeni prispevek

Laking G, Lord J, Fischer A. The economics of diagnosis. *Health Econ.* V tisku 2006.

ODDAJA PRISPEVKA

Prispevke in slike pošljite po elektronski pošti na naslov prispevki@medrazgl.si

V elektronskem sporočilu, s katerim odgovornemu uredniku oddajate prispevek, na kratko predstavite vsebino prispevka in pomembne nove ugotovitve v njem ter navedite korespondenčnega avtorja (s polnim naslovom, telefonsko številko in elektronskim naslovom), ki bo skrbel za komunikacijo z uredništvom in ostalimi avtorji.

Oddani prispevek mora obvezno spremljati izjava o avtorstvu in avtorskih pravicah, s katero potrjujete, da izpolnjujete kriterije ICMJE za avtorstvo prispevka in da se

strinjate s prenosom avtorskih pravic na Društvo Medicinski razgledi. Izjavo morajo lastnoročno podpisati vsi avtorji in originalni izvod poslati po navadni pošti na naslov uredništva: Društvo Medicinski razgledi, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana. Dokler izjave ne prejmemo, prispevka ne bomo objavili. Izjavo najdete na naši spletni strani: http://www.medrazgl.si/arhiv/mr_izjava_o_avtorstvu.pdf

UREDNIŠKO DELO

Odgovorni urednik vsak oddani prispevek pregleda in se odloči o uvrstitvi v uredniški postopek. Prispevke, uvrščene v uredniški postopek, posreduje ostalim članom uredniškega odbora, ki poskrbijo za tehnične in slogovne popravke, ter popravljen prispevek vrnejo avtorjem v pregled. Nato vsebino prispevka oceni strokovni recenzent, ki avtorjem ni znan, prav tako strokovni recen-

zent ni seznanjen z identiteto avtorjev. Prispevek pregledata tudi lektorja za slovenski in angleški jezik. Avtor pred objavo prispevka dobi na vpogled krtačne odtise (t. i. prve korekture), vendar na tej stopnji upoštevamo samo popravke tiskarskih napak. Komentarje na krtačne odtise morate vrniti v treh dneh, sicer menimo, da nimate pripomb.

Uredništvo pri svojem delu upošteva priporočila Committee on Publication Ethics (COPE), objavljena na <http://publication-ethics.org/>

Pri prispevkih, kjer je eden od avtorjev glavni urednik, odgovorni urednik, tehnični urednik ali član uredniškega odbora Medicinskih razgledov, se držimo priporočil COPE za zagotavljanje neodvisnega in preglednega uredniškega postopka.

Navodila avtorjem prispevkov so bila nazadnje posodobljena 23. 3. 2014. Navodila so dostopna na <http://www.medrazgl.si/>

Guidelines for Authors

Medicinski razgledi is a quarterly peer-reviewed scientific journal, which has been in continuous publication for over 50 years. It publishes research and review articles from all fields of biomedical sciences as well as clinical case reports. The scope of Medicinski razgledi is to offer its target readership, specifically medical and dental students as well as family doctors, information about the latest biomedical developments in Slovenian language and thus contribute to the advancement and recognition of Slovenian biomedicine. The aim of the editorial board is to publish good scientific manuscripts, regardless of topic and form, with a special emphasis on research articles and interesting clinical case reports.

MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscripts must conform to the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals published by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). The recommendations are available at <http://www.icmje.org/recommendations/>

Only manuscripts that have not already been submitted and will not be submitted elsewhere are accepted. It is at the editorial board's discretion to decide whether a duplicate or an overlapping publication might be justifiable due to the nature of the manuscript (e.g. clinical guidelines and recommendations, published with the intent of reaching the broadest audience possible). If such an exception is to be made, the authors have to notify the editorial board of a possible duplicate or an overlapping publication in advance and obtain the permission of the editor of the journal to which the manuscript was originally submitted. All submitted manuscripts will be analyzed with plagiarism detection soft-

ware. If a part of a submitted manuscript was taken from another publication (e.g. figures and tables), the authors must obtain copyright permission from the author of the original publication and its publisher.

Language

The preferred language of Medicinski razgledi is Slovenian. The abstract and key words should be submitted in both Slovenian and US English.

Authorship

As per ICMJE recommendations, determination of authorship is based on the following four criteria:

- substantial contributions to the conception or design of the manuscript; or the acquisition, analysis, or interpretation of data,
- drafting of the manuscript or critical revision for important intellectual content,
- final approval of the version to be published, and
- agreement to be accountable for all aspects of the manuscript in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the manuscript are appropriately investigated and resolved.

All designated authors of a manuscript should meet all aforementioned criteria for authorship. Participation in data acquisition alone is insufficient for manuscript authorship. Any changes in the authorship of the manuscript after submission have to be confirmed to the editorial board in writing by everyone listed as authors in the originally submitted manuscript.

Ethical considerations and conflicts of interest

Manuscripts based on research involving humans or animals must list under methods

the approval of an appropriate ethical review board which states that the research was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki and other important documents pertaining to the ethics of biomedical research. Clinical trials should be registered in one of ICMJE-approved public trials registries in accordance with the World Health Organization standards; more information regarding clinical trial registration is available at <http://www.who.int/ictrp/en/>

It is mandatory for the authors of case reports to obtain permission from the patient (or, if that is not possible, close relatives) before submitting the case report. Permission is not required only if the authors can guarantee that the case cannot be identified.

Authors should disclose information on any possible conflict of interest (financial, personal, academic etc.) that could influence the objectivity and validity of the manuscript.

Organization of the manuscript

Manuscripts should be edited using Microsoft Word® or OpenOffice.org software and submitted as .doc or .docx files. The font should be Times New Roman, size 12 pt, with line spacing of 1.5 and margins of 2.5 cm. The length of the manuscript should not exceed 30 pages, including the first (title) page and references. The manuscript must contain a first page, abstracts and key words in Slovenian and English as well as a list of references. Research articles should have the following structure: introduction, methods, results and discussion. Review articles and case reports can be structured differently, but have to include an introduction and conclusions.

First (title) page

The first page should carry the article title in both Slovenian and English, full names of the authors (including their academic and

professional titles), contact e-mail and address of the institution, institute or clinic to which the work should be attributed. The title should be concise, descriptive and not affirmative (no sentences). Sources of financial support, equipment, drugs etc. should be stated along with the disclosure of conflicts of interest.

Abstract and key words

The second page should contain the abstracts in Slovenian and English. The abstracts should be between 150 and 250 words in length. Research article abstracts should have the following structure: backgrounds, methods, results and conclusions. Review article abstracts and case report abstracts should be unstructured. The purpose of the abstract is to present the aim of the manuscript while recapitulating the content. The abstract should not contain abbreviations. Authors must list up to seven key words, which summarize the content of the manuscript.

Introduction

The authors should present the problem in a brief, yet structured way, proceeding from the general, broad context and already known facts, to the problem itself and its solutions within the manuscript (the so-called funnel structure). In research articles, the introduction should contain a clear hypothesis.

Methods

The methods chapter should describe the protocol authors used to find an answer to a problem or to test the hypothesis. Protocol description should be precise enough to allow for the repeatability of the research. Authors have to state the type and manufacturer of the scientific equipment and chemicals used in the research. Methods and software used for statistical analysis have to be clearly described. The approval of relevant ethical committees must also be

stated (for more information see chapter Ethical considerations and conflicts of interest).

Results

The text of the results chapter should clearly state the main findings, with additional details provided in tables and figures. Authors should avoid repeating the data from the tables and figures in the text. They should provide exact P-values (at least three decimal places).

Discussion, conclusions

The purpose of the discussion is not to recapitulate results, but to interpret them and compare them with relevant existing publications. Conclusions (in review articles or in clinical case reports they should form a separate chapter), are intended for the authors to discuss the implications of their findings and possible considerations for future research.

Tables

Tables should be logically inserted into the text and sequentially numbered. Each table has to be referenced in the text of the manuscript. Tables should contain a title with the sequential number and an explanation of all the abbreviations and non-standard units used in the table.

Figures

Figures should be professionally designed or photographed and submitted in digital form and in print quality (300 DPI). Figures can be submitted as raster graphics (.jpeg, .tiff, .png, .gif etc.) or as vector graphics (.ai, .eps, .cdr etc.) Simple schemes can be created using Microsoft Word® software. Letters, numbers or symbols shown in the figures should be clear, uniform, and large enough to be readable once the figure is minimized. Figures from which the identity of the patient can be determined must be accompanied by written consent of the patient.

In the text, every figure has to be referenced. As well as being inserted into the appropriate place in the manuscript, figures should be also submitted as separate files, with file names containing the sequential number of the figure and the name of the first author of the manuscript. Legends under the figures should contain the sequential number, figure title and the information necessary for the understanding of figure content. Figures together with accompanying legends should be understandable without reading the body text. All abbreviations in the figures must be explained. If you have any doubts about the technical adequacy of figures, please consult the editorial board before submission.

Units of measurement

All units of measurement used in the manuscript should be stated using the International System of Units (SI).

Abbreviations

The chapter headings and abstracts should not contain abbreviations. All non-standard abbreviations should be explained in the following way: the term should be written in full the first time it appears in the text, followed by the abbreviation in parentheses. The exception to this rule are standard units of measurement and abbreviations (3D, aids, AMP, ATP, cAMP, cGMP, CT, DNA, EKG, EUR, GMP, GTP, HIV, MRI, RNA, RTG, US, USA).

References

Every citation or fact stated in the text, figures or tables must be supported with a reference. References should be listed with sequential Arabic numbers in parentheses before the full stop or colon, written in italic formatting (so-called Vancouver citation style). The reference numbers included only in the figures and tables should follow the same sequence as in the text. The section listing all the references appearing

in the manuscript should be included at the end of the manuscript. Reference formatting described in the National Library of Medicine's Citing Medicine guide (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>) should be used. Journal names should be abbreviated as on PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). The names of the first three referenced authors of the manuscript should be stated, followed by et al.

Examples of correct reference formatting:

Journal article

Petek Šter M, Švab I. Bolniki s sočasnimi boleznimi v družinski medicini. *Med Razgl.* 2008; 48 (2): 205–11.

Bajuk Studen K, Preželj J, Kocjan T, et al. Mehanizmi srčno-žilne ogroženosti žensk s sindromom policističnih ovarijev. *Zdrav Vestn.* 2009; 78: 129–35.

Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, et al. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol.* 2005; 62 (1): 112–6.

Journal article with organization as author

American Diabetes Association. Diabetes update. *Nursing.* 2003; Suppl: 19–20, 24.

Journal article volume with supplement

Vesel S. Spremembe na srcu pri Kawasaki-kijeji bolezni. *Med Razgl.* 2002; 41 Suppl 2: 139–43.

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1994; 102 Suppl 2: 275–82.

Journal article issue with supplement

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol.* 1996; 23 (1 Suppl 2): 89–97.

Journal article with type of article indicated

Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [izvleček]. *Kidney Int.* 1992; 42: 1285.

Jackson B, Fleming T. A drug is effective if better than a harmless control [pismo uredništva]. *Nature.* 2005; 434 (7037): 1067.

Book

Ahčan U. Prva pomoč: priročnik s praktičnimi primeri. Ljubljana: Rdeči križ Slovenije; 2007.

Jenkins PF. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005.

Eyre HJ, Lange DP, Morris LB. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; c2002.

Advanced Life Support Group. Acute medical emergencies: the practical approach. London: BMJ Books; 2001.

Chapter in a book

Možina M, Jamšek M, Šarc L, et al. Zastrupitve. In: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D, eds. *Interna medicina.* Ljubljana: Littera picta; 2005. p. 1143–507.

Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, ed. *The cat: diseases and clinical management.* New York: Churchill Livingstone; 1989. p. 229–332.

Kone BC. Metabolic basis of solute transport. In: Brenner BM, Rector FC, eds. *Brenner and Rector's the kidney.* 8th ed. Vol. 1. Philadelphia: Saunders Elsevier; c2008. p. 130–55.

Conference proceedings

Ferreira de Oliveira MJ, ed. Accessibility and quality of health services. *Proceedings*

of the 28th Meeting of the European Working Group on Operational Research Applied to Health Services (ORAHs); 2002 Jul 28–Aug 2; Rio de Janeiro, Brazil. Frankfurt (Germany): Peter Lang; c2004.

10th International Psoriasis Symposium; 2004 Jun 10–13; Toronto, ON. Chicago: Skin Disease Education Foundation; 2004.

Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, et al. Canabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, eds. Proceedings of the 10th World Congress on Pain; 2002 Aug 17–22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003. p. 437–68.

Dissertations and theses, scientific reports

Šabovič M. Mehanizem fiziološkega in farmakološkega raztapljanja krvnih strdkov [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 1992.

Liu-Ambrose TY. Studies of fall risk and bone morphology in older women with low bone mass [doktorsko delo]. Vancouver (BC): University of British Columbia; 2004.

Weisbaum LD. Human sexuality of children and adolescents: a comprehensive training guide for social work professionals [magistrsko delo]. Long Beach (CA): California State University, Long Beach; 2005.

Legal documents

Zakon o zdravniški službi 1999. Uradni list RS št. 98/1999.

Web sites

AMA: helping doctors help patients [internet]. Chicago: American Medical Association; c1995–2007 [citirano 2007 Feb 22]. Dosegljivo na: <http://www.ama-assn.org/>

Journal articles on the internet

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after

femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [internet]. 2006 [citirano 2007 Jan 5]; 27 (1): 34–7. Dosegljivo na: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>

Books on the internet

Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, et al., eds. *Harrison's online* [internet]. 16th ed. Columbus (OH): McGraw-Hill Companies; c2006 [citirano 2006 Nov 20]. Dosegljivo na: <http://www.accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=4>

Databases on the internet

Online Archive of American Folk Medicine [internet]. Los Angeles: Regents of the University of California. 1996 [citirano 2007 Feb 1]. Dosegljivo na: <http://www.folk-med.ucla.edu/>

Journal articles on CD-ROM, DVD, or Disk

Kauffman CA, Bonilla HF. Trends in antibiotic resistance with emphasis on VRE. *FPR* [CD-ROM]. 1998; 20 (10).

Books on CD-ROM, DVD, or Disk

Kacmarek RM. *Advanced respiratory care* [CD-ROM]. Verzija 3.0. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; c2000.

Computer programs on CD-ROM, DVD, or Disk

Meader CR, Pribor HC. *DiagnosisPro: the ultimate differential diagnosis assistant* [CD-ROM]. Verzija 6.0. Los Angeles: Med-Tech USA; 2002.

Forthcoming journal articles

Laking G, Lord J, Fischer A. The economics of diagnosis. *Health Econ*. V tisku 2006.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts and figures should be submitted via e-mail to prispevki@medrazgl.si

The submission should be accompanied by a Letter to the Editor stating the topic

and major findings of the manuscript along with corresponding author's information (full name, phone number and e-mail address).

All submitted manuscripts must be accompanied by the Authorship and Copyright Statement Form, with which the authors confirm that they fulfill the ICMJE criteria for manuscript authorship and that the copyright of all material published is vested in Društvo Medicinski razgledi. All authors must sign the statement form and send the original to the following address: Društvo Medicinski razgledi, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana, Slovenia. Accepted manuscripts will not be published until signed statements from all authors have been received. The Authorship and Copyright Statement Form is available at http://www.medrazgl.si/arhiv/mr_statement_of_authorship.pdf

EDITORIAL WORK

The editor reviews every submitted manuscript. Accepted manuscripts are forwarded to editorial board members for technical

editing. The manuscripts are then returned to the authors and subsequently forwarded to peerreviewers. The peerreview process is confidential with neither the authors nor the peerreviewers being aware of each other's identity. Manuscripts are also proofread by readers for Slovenian and English. Before publication, authors receive page proofs. The authors must notify the editorial board of any print errors in the page proofs in three working days, as no further corrections are possible afterwards.

The editorial board conducts its work in accordance with the Committee on Publication Ethics (COPE) guidelines, which are available at <http://publicationethics.org/>

Manuscripts which are co-authored by the editor-in-chief, editor, production editors or members of the editorial board are subject to COPE recommendations for an independent and unbiased editing.

Guidelines for manuscript authors were last updated on 23. 3. 2014 and are available at <http://www.medrazgl.si>

MEDICINSKI RAZGLEDI

Biomedical research, professional and review articles

EDITORIAL OFFICE

Društvo Medicinski razgledi
Korytkova ulica 2
1000 Ljubljana
Slovenia

T +386 1 524 23 56 **F** +386 1 543 70 11

E info@medrazgl.si

W www.medrazgl.si

POR: 02014-0050652588

EDITOR-IN-CHIEF

Tjaša Gortnar

MANAGING EDITOR

Anžej Hladnik

PRODUCTION EDITORS

Maša Majcen, Jurij Martinčič,
Samo Roškar, Gašper Tonin

EDITORIAL BOARD

Nina Kobal, Vanesa Koračin, Katja Kores, Ana Karin Kozjek, Nik Krajnc, Irena Krapež, Anita Meglič, Jure Puc, Lana Vodnik, Nika Vrabič, Ines Žabkar, Nika Žagar, Sandra Žunič

READERS FOR SLOVENIAN

Kristijan Armeni, Anja Draksler, Mateja Hočevar Gregorič, Lučka Zorko

READERS FOR ENGLISH

Kristijan Armeni, Lucija Skarlovnik

DTP

SYNCOMP d. o. o.

PRINTING PRESS

Nonparel d. o. o.

FRONT COVER

Jurij Martinčič

MEDICINSKI RAZGLEDI IS

ABSTRACTED AND/OR INDEXED BY

Biological Abstracts, Biomedicina Slovenica, Bowker International, Chemical Abstracts, Nutritional Abstracts

SUPPORTED BY

Faculty of Medicine, Ljubljana
Slovenian Research Agency

Medicinski razgledi is published in four issues a year, 1,800 copies per issue.
Regular price per copy is **6 €**, for students **4 €**, for institutions **10 €**.

COPYRIGHT © MEDICINSKI RAZGLEDI 2019

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means without written permission from the publisher.



- 3** Biotechnological Strategies in Treatment of Obesity – *Veronika Cencen, Jernej Kovač, Simon Horvat, Primož Kotnik*
- 13** Hyperkalemia – Etiology, Clinical Signs and Treatment – *Petra Novak, Vanja Peršič*
- 23** Anatomy and Clinical Significance of Anterolateral Knee Ligament – *Nik Žlak, Luka Vitez, Marija Hribernik, Matej Drobnič*
- 31** Novel Approaches to Cardiac Pacing – *Mark Jovanović, Marta Cvijić*
- 43** Percutaneous Coronary Sinus Reducer Implantation: a New Refractory Angina Pectoris Treatment Method – *Črt Langel, Miha Mrak, Matjaž Bunc*
- 55** Venomous Snakes in Slovenia – Composition and Action of Their Venoms – *Vid Leban, Miran Brvar, Igor Križaj, Adrijana Leonardi, Katarina Černe*
- 75** Tonsillar Dissection Techniques – *Klara Mihelič*
- 83** Hemophagocytic Lymphohistiocytosis – *Nik Krajnc, Janez Jazbec*
- 93** Pulmonary Langerhans Cell Histiocytosis and Passive Smoking: a Review and a Case Report – *Maja Badovinac, Barbara Salobir, Marjeta Terčelj-Zorman*
- 101** Fat Embolism Syndrome and Case Report – *Alja Gabrilo, Primož Gradišek*
- 111** Diagnostic Challenge
- 115** News
- 123** List of Graduated Students
- 131** Guidelines for Authors