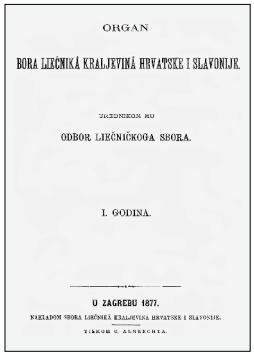
LIJEČNIČKI VJESNIK

GLASILO HRVATSKOGA LIJEČNIČKOG ZBORA

Utemeljen 1877.

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


ORGAN
BORA LIEČNIKÁ KRALJEVINÁ HRVATSKE I SLAVONIJE.
ODBOR LIEČNIČKOGA SBORA.
I. GODINA.
U ZAGREBU 1877.

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

Liječnički vjesnik tiskano izdanje ISSN 0024-3477
Liječnički vjesnik on line izdanje ISSN 1894-2177

Osnivač i izdavač
HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR

Za izdavača
ŽELJKO KRZNARIĆ

Glavni i odgovorni urednik
BRANIMIR ANIĆ

Tajnik uredničkog odbora
Željko Ferenčić

Tajnica redakcije
Draženka Kontek

Lektor za hrvatski jezik
Branko Erdeljac

Lektorica za engleski jezik
Mirjana Marečić

Deskriptori
Anamarija Laboš

Naslovnica
KONTRAST

Tehnički urednik
Josip Vlahović

Slog
"Gredice" – Horvaćanska 67, Zagreb, Hrvatska

Tisak
PRINTERA grupa – ulica Franje Tuđmana 14, Sveta Nedelja, Hrvatska

Web stranica
Alen Babacanli

SAVJET

Predsjednik
Mladen Belicza

Tajnik
Miroslav Hromadko

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

UREDNIČKI ODBOR

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

Naklada
7850 primjeraka

Zagreb 2019.

Opis

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

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

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

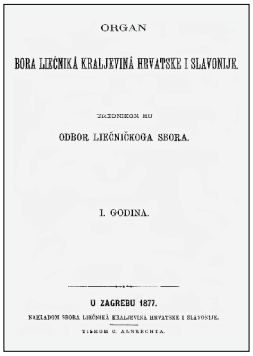
Tiskano u Hrvatskoj

Autorska prava: Objava: Hrvatski liječnički zbor.
Svi su članci slobodno dostupni pod uvjetima Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivates 4.0 međunarodna licenca. Ova licenca dopušta drugima da preuzimaju radove i podijele ih s drugima sve dok vam priznaju, ali ih ne mogu ni na koji način promijeniti ili komercijalno koristiti. https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode

LIJEČNIČKI VJESNIK

THE JOURNAL OF THE CROATIAN MEDICAL ASSOCIATION
Founded 1877

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


ORGAN
BORA LIJEČNIKÁ KRALJEVINÁ HRVATSKE I SLAVONIJE.
TIEDNIKOM IH
ODBOR LIJEČNIČKOGA SBORA.
I. GODINA.
U ZAGREBU 1877.

UDK 61(061.231)=862=20
Liječnički vjesnik indexed or abstracted in: EMBASE/Excerpta Medica, Scopus, EBSCO, Hrčak

Liječnički vjesnik printed edition ISSN 0024-3477
Liječnički vjesnik on line edition ISSN 1894-2177

Founder and Publisher
HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR
For Publisher
ŽELJKO KRZNARIĆ
Editor-in-Chief
BRANIMIR ANIĆ
Secretary of the Editorial Board
Željko Ferenčić
Secretary of the Editorial Office
Draženka Kontek
Croatian Language Revision
Branko Erdeljac
English Language Revision
Mirjana Marečić
Descriptors
Anamarija Laboš
Front Page
KONTRAST
Technical Board
Josip Vlahović
Typesetting
"Gredice" – Horvaćanska 67, Zagreb, Croatia
Printed by
PRINTERA grupa – Franjo Tuđman street 14, Sveta Nedelja, Croatia
Web page
Alen Babacanli

ADVISORY BOARD

President
Mladen Belicza

Secretary
Miroslav Hromadko

Members
Nada Čikeš (Zagreb) – Hedvig Hricak (New York) – Miroslav Hromadko (Zagreb) – Mirko Jung (Zürich) – Ivica Kostović (Zagreb) – Ante Padjen (Montreal) – Marko Pećina (Zagreb) – Dinko Podrug (New York) – Miljenko Pukanić (Sydney) – Smiljan Puljić (Upper Saddle River, New Jersey) – Petar Reić (Split) – Berislav Tomac (Hagen) – Marko Turina (Zürich) – Ljiljana Zergollern-Čupak (Zagreb)

EDITORIAL BOARD

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

Edition
7850 copies

Zagreb 2019

Description

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

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

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

Printed in Croatia

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

SADRŽAJ / CONTENT

SMJERNICE / *GUIDELINES*

Romana Gjergja Juraški, Nina Barišić, Matilda Kovač Šižgorić, Igor Prpić
Smjernice za farmakoterapiju epilepsija u djece i adolescenata Hrvatskog društva za dječju neurologiju HLZ-a
Guidelines of the Croatian Child Neurology Society for Pharmacotherapy of Epilepsy in Children and Adolescents 181

PREGLED / *REVIEW*

Siniša Maslovara, Dražen Begić, Silva Butković-Soldo, Petar Drviš, Ivana Pajić Matić, Anamarija Šestak
Funkcionalne vrtoglavice u svjetlu novoutemeljenog entiteta – perzistentne posturalno-percepcijske vrtoglavice
Functional dizziness in the light of the newly-established entity – Persistent postural-perceptual dizziness 196

SIMPOZIJ: Kliničko-dijagnostički multidisciplinarni pristup u području mijelodisplazija, poremećaja i bolesti endometrija i štitnjače
/ SYMPOSIUM: Clinical-diagnostic multidisciplinary approach in the field of myelodysplasia, endometrial and thyroid disorders and diseases

Ika Kardum-Skelin, Gordana Kaić, Ines Krivak Bolanča
60 godina kliničke citologije u Kliničkoj bolnici Merkur
60 years of clinical cytology in Merkur University Hospital, Zagreb 207

Gordana Kaić, Biljana Jelić Puškarić, Marina Pažur, Mia Šunjić Stakor, Slobodanka Ostojić Kolonić, Delfa Radić Krišto, Marko Martinović, Ika Kardum-Skelin
Mijelodisplastični sindrom – nove spoznaje i „stara" morfologija
Myelodysplastic syndromes – new discoveries and an "old" morphology 209

Zoran Šiftar
Protočna citometrija u mijelodisplastičnom sindromu. Korak naprijed
Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndrome. Step forward. 214

Biljana Jelić Puškarić, Gordana Kaić, Marina Pažur, Mia Šunjić Stakor, Suzana Katalenić Simon, Inga Mandac Rogulj, Slobodanka Ostojić Kolonić, Delfa Radić Krišto, Ika Kardum-Skelin
Morfologija mijelodisplastičnih/mijeloproliferativnih neoplazma (MDS/MPN)
Morphology of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN) 220

Mirjana Mariana Kardum Paro, Inga Mandac Rogulj, Gordana Kaić, Biljana Jelić Puškarić, Ika Kardum-Skelin, Anita Škrtić, Slobodanka Ostojić Kolonić
Ekspresija mikroRNK (miRNK) u mijelodisplastičnom sindromu (MDS)
Expression of micro RNAs (miRNAs) in myelodysplastic syndrome (MDS) 226

Inga Mandac Rogulj, Vibor Milunović, Mirjana Mariana Kardum Paro, Delfa Radić Krišto, Gordana Kaić, Slobodanka Ostojić Kolonić
Izražaj cirkulirajućeg mikroRNK u mijelodisplastičnom sindromu
Circulating microRNA expression in myelodysplastic syndrome 233

Vibor Milunović, Inga Mandac Rogulj, Dražen Perica, Karla Mišura Jakobac, Njetočka Gredelj Šimec, Anita Škrtić, Ika Kardum-Skelin, Sanja Davidović Mrsić, Slobodanka Ostojić Kolonić
Prognostički čimbenici u mijelodisplastičnom sindromu: iskustvo jednog centra
Prognostic factors in myelodysplastic syndromes: single-center experience 238

Ingrid Prkačin, Inga Mandac Rogulj, Višnja Mandac Bajan, Ana Planinc Peraica, Gordana Cavrić, Dean Mileta
Bolesnik s mijelodisplastičnim sindromom u hitnoj službi
Patient with myelodysplastic syndrome in emergency department 247

VIJESTI / *NEWS* 208, 213, 219

UPUTE AUTORIMA / INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

O ČASOPISU

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

PREDAJA RADA / OBJAVA RUKOPISA

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

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

AUTORSTVO

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

PLAGIRANJE I POVLAČENJE RADA

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

KATEGORIZACIJA, FORMAT I OPSEG RADOVA

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

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

ABOUT THE JOURNAL

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

PAPER SUBMISSION / MANUSCRIPT PUBLICATION

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

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

AUTHORSHIP

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

PLAGIARISM AND RETRACTION OF PAPERS

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

CATEGORIZATION, FORMATTING AND WORD LIMIT FOR PAPERS

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

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

PRIPREMA RADA / RUKOPISA

Rukopis mora imati ovaj sadržaj:

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

2. ***Sažetak i ključne riječi***

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

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

3. ***Uvod***

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

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

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

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

5. ***Rezultati***

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

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

6. ***Rasprava***

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

7. ***Zaključci***

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

8. ***Statistička obrada***

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

9. ***Etika i etički standardi***

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

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

10. ***Kratice***

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

11. ***Simboli***

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

12. ***Tablice***

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

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

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

ARTICLE / MANUSCRIPT PREPARATION

The manuscript should include:

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

2. ***Abstract and Keywords***

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

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

3. ***Introduction***

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

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

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

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

5. ***Results***

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

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

6. ***Discussion***

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

7. ***Conclusions***

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

8. ***Statistics***

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

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

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

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

10. ***Abbreviations***

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

11. ***Symbols***

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

12. ***Tables***

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

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

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

13. ***Figures***

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

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

13. ***Slike***

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

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

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

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

14. ***Popis literature***

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

Primjeri citiranja literature:

Članak u časopisu

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

Suplement časopisa:

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

Knjige i monografije

Autor(i) pojedinci

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

Urednik

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

Poglavlje u knjizi

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

Članak na internetu

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

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

16. ***Zahvala***

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

PROCES OCJENE RADA

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

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

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

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

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

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

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

14. ***References***

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

Citing references – examples:

Journal article

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

Journal supplement

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

Books and monographs

Individual author(s)

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

Editor

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

Chapter in a book

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

Article on the Internet

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

15. ***Letter of submission***

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

16. ***Acknowledgements***

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

REVIEW PROCESS

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

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

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

Liječ Vjesn 2019;141:181–195
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-23

Smjernice | Guidelines

Smjernice za farmakoterapiju epilepsija u djece i adolescenata Hrvatskog društva za dječju neurologiju HLZ-a

Guidelines of the Croatian Child Neurology Society for Pharmacotherapy of Epilepsy in Children and Adolescents

Romana Gjergja Juraški[1], Nina Barišić[2], Matilda Kovač Šižgorić[3], Igor Prpić[4]

[1] Dječja bolnica Srebrnjak, Klinika za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
[2] Zavod za pedijatrijsku neurologiju, Referentni centar Ministarstva zdravstva za pedijatrijske neuromuskularne bolesti, Klinika za pedijatriju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Klinički bolnički centar Zagreb
[3] Poliklinika za dječje bolesti dr. Sabol, Zagreb
[4] Referentni centar Ministarstva zdravstva za epilepsije i konvulzivne bolesti razvojne dobi, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Klinički bolnički centar Rijeka

Deskriptori
EPILEPSIJA – dijagnoza, farmakoterapija, klasifikacija; ANTIKONVULZIVI – neželjeni učinci, primjena i doziranje, terapijska uporaba; OKSKARBAZEPIN – terapijska uporaba; KARBAMAZEPIN – terapijska uporaba; VALPROAT – neželjeni učinci, terapijska uporaba; LEVETIRACETAM - terapijska uporaba; SMJERNICE; HRVATSKA

SAŽETAK. Primjena antiepileptičkih lijekova pri liječenju epilepsije u djece i adolescenata, a osobito donošenje odluke o započinjanju farmakoterapije mogu biti zahtjevni i složeni s obzirom na različite farmakoterapijske mogućnosti. Antiepileptičke lijekove treba propisivati prema generičkom nazivlju pojedinog lijeka, a ne prema farmaceutskom odnosno tvornički zaštićenom imenu. Liječenje epilepsije treba započeti lijekom prvog izbora: izvornim (originalnim) lijekom ili generičkim. U smjernicama za farmakoterapiju epilepsija u djece prikazani su opća načela farmakološkog liječenja epilepsije i mogućnosti donošenja odluka o farmakološkom liječenju epilepsija i epileptičkih sindroma u Republici Hrvatskoj. U radu je dan i kratak osvrt na najčešće upotrebljavane i najvažnije antiepileptičke lijekove, njihove neželjene učinke i interakcije. Navedeni su i noviji antiepileptički lijekovi koji još nisu na osnovnoj ili dopunskoj listi lijekova u RH, no primjenjuju se pri liječenju epilepsija u djece i učinkoviti su. Lijekovi prvog izbora za napadaje sa žarišnim početkom i žarišne epilepsije jesu okskarbazepin (razina dokaza: klasa 1A (AAN) i GRADE 1B) i karbamazepin (razina dokaza: klasa 1A (AAN) i GRADE 1B). Antiepileptički lijek prvog izbora za epileptičke napadaje s generaliziranim početkom i generalizirane epilepsije, ponajprije u dječaka, jest valproat (razina dokaza: klasa 1A (AAN) i GRADE 1A). Zbog mogućega teratogenog i nepovoljnog učinka na postnatalni razvoj djece izložene *in utero* valproatima i lijekovima generički srodnima valproatu kao prvi lijek izbora za generaliziranu epilepsiju bolesnicama se preporučuju levetiracetam (razina dokaza: klasa 1B (AAN) i GRADE 1C) i etosuksimid (potonji za apsanse) (razina dokaza: klasa 1A (AAN), GRADE 1B), i to od dojenačke do kraja generativne dobi. Svakako je opravdana primjena valproata u djevojčica kao lijeka izbora pri nedjelotvornosti ili nuspojavama antiepileptičkog lijeka prvog izbora za generalizirane epilepsije i kada trudnoća nije vjerojatna zbog težine bolesti.

Descriptors
EPILEPSY – classification, diagnosis, drug therapy; ANTICONVULSANTS – admministration and dosage, adverse effects, therapeutic use; OXCARBAZEPINE – therapeutic use; CARBAMAZEPINE – therapeutic use; VALPROIC ACID – adverse effects, therapeutic use; LEVETIRACETAM – therapeutic use; PRACTICE GUIDELINES AS TOPIC; CROATIA

SUMMARY. The use of antiepileptic drugs in the treatment of epilepsy in children and adolescents, and first of all decision making on pharmacotherapy, may be demanding and complex given the various pharmacologic possibilities. Antiepileptic drugs should be prescribed according to the generic term of a single drug rather than the pharmaceutical/factory-protected name. Treatment of epilepsy should start with the first choice drug: the original or generic drug. Guidelines for pharmacotherapy of epilepsy in children are presented as the general principles of pharmacological treatment of epilepsy and as decision making about pharmacological treatment of epilepsy and epileptic syndromes in the Republic of Croatia. The paper also briefly reviews the most commonly used and most important antiepileptic drugs, their adverse effects and interactions. New antiepileptic drugs that are not yet on the primary or supplemental list of medicines in Croatia are also listed, but are applied in the treatment of epilepsy in children and are effective. The first choices for seizures with focal onset and focal epilepsy are oxcarbazepine (evidence level: class 1A (AAN) and GRADE 1B) and carbamazepine (evidence level: class 1A (AAN) and GRADE 1B). Antiepileptic drug of the first choice for seizures with generalized onset /generalized epilepsy in male patients is valproate (evidence level: class 1A (AAN) and GRADE 1A). Levetiracetam (evidence level: class 1B (AAN) and GRADE 1C) and etosuximid (the latter for absence seizures) (evidence level: class 1A (AAN) and GRADE 1B) are recommended as the drugs of the first choice in the treatment of generalized seizures/epilepsy in female patients since infancy due to possible teratogenic and other adverse effects on postnatal development after intrauterine exposure to valproic acid and valproic acid related drugs. It is certainly justified to use valproate in girls as a therapy in the case of inefficiency/antiepileptic side effects of the first choice therapy for generalized epilepsy, and when pregnancy is unlikely due to the severity of the disease itself.

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Doc. dr. sc. Romana Gjergja Juraški,
Dječja bolnica Srebrnjak,
Srebrnjak 100, 10000 Zagreb;
e-mail: romanagjergja68@gmail.com

Primljeno 20. studenoga 2018.,
prihvaćeno 1. srpnja 2019.

Radna skupina pri Hrvatskom društvu za dječju neurologiju HLZ-a izradila je smjernice za farmakoterapiju epilepsija u djece i adolescenata. Izradu smjernica nisu financijski potpomogle tvrtke, institucije ni udruge, a svi autori poriču sukob interesa. Ove su smjernice namijenjene ponajprije neuropedijatrima, ali i ostalim liječnicima u Republici Hrvatskoj koji se skrbe za pedijatrijsku populaciju i u primarnoj i u bolničkoj zdravstvenoj zaštiti. U smjernicama su prikazani opća načela farmakološkog liječenja epilepsije i mogućnosti donošenja odluka o farmakološkom liječenju epilepsija i epileptičkih sindroma u djece u Republici Hrvatskoj: AEL prvog izbora i AEL drugog izbora uz prikaz ukupne dnevne doze pojedinih lijekova (tablica 1.). Navedeni su i AEL-i koji nisu učinkoviti u pojedinim tipovima epilepsije ili pogoršavaju napadaje (tablice 2.a i 2.b). Dan je i kratak osvrt na najčešće upotrebljavane i najvažnije antiepileptičke lijekove, njihove neželjene učinke i interakcije. Prikazani su važniji mehanizmi djelovanja i farmakokinetika antiepileptika (tablica 3.). Navedeni su i noviji AEL-i koji još nisu na osnovnoj ili dopunskoj listi lijekova u RH, no primjenjuju se pri liječenju epilepsija u djece.

Dokazi koji potkrepljuju ove smjernice temelje se na sustavnom pregledu literature. Pretraženi su: baze podataka, bez vremenskog ograničenja publiciranja radova (*Pubmed/Medline*, *Evidence-based Medicine Reviews*, *Cochrane Database of Systematic Reviews*), smjernice stručnih društava i udruga (Međunarodna liga protiv epilepsije, Američka neurološka akademija, Nacionalni institut kliničke izvrsnosti, Europska medicinska agencija), rezultati randomiziranih studija i retrospektivne studije o temi terapije epilepsija u djece i adolescenata.

Dijagnoza epilepsije i epileptičkog sindroma u djece pruža više farmakoterapijskih mogućnosti. Pri liječenju se primjenjuju ponajprije antiepileptički lijekovi, a donošenje odluke o započinjanju liječenja AEL-ima može biti zahtjevno i složeno.

Odluka o propisivanju određenog AEL-a nalaže individualizirani pristup svakom bolesniku i ovisi ponajprije o tipu epileptičkih napadaja, odnosno o tipu epilepsije i/ili epileptičkog sindroma, a temelji se na principima racionalne farmakoterapije s obzirom na sve specifičnosti dječje populacije.[1]

U Hrvatskoj odobrenje za stavljanje AEL-a u promet daje Agencija za lijekove i medicinske proizvode (HALMED), a Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje (HZZO) regulira osnovnu i dopunsku listu antiepileptičkih lijekova na tržištu.[2]

Antiepileptičke lijekove propisujemo prema generičkom nazivlju pojedinog lijeka, a ne prema farmaceutskom odnosno tvornički zaštićenom imenu. Liječenje epilepsije možemo započeti originalnim lijekom ili generičkim. Iako zakonska regulativa u RH to ne nalaže, preporučujemo da se liječenje epilepsije nastavi odabranim AEL-om istog proizvođača s kojim je i započelo.[3–5]

Liječenje epilepsije treba započeti temeljem kriterija za postavljanje njezine dijagnoze. Prema najnovijoj prihvaćenoj definiciji Međunarodne lige protiv epilepsije (engl. *International League Against Epilepsy* – ILAE), epilepsija je bolest obilježena dvama epileptičkim napadajima u razmaku duljem od 24 sata, definiranim epileptičkim sindromom ili jednim napadajem u bolesnika s dokazanim strukturnim promjenama na mozgu (moždani udar, tumor, opsežne posttraumatske promjene), pri čemu vjerojatnost recidiva napadaja (60% i više) odgovara istoj vjerojatnosti kao i nakon dva neprovocirana napadaja.[6,7]

Nema dovoljno dokaza koji upućuju na to da u pedijatriji primjena AEL-a u kroničnoj terapiji nakon prvog napadaja ima prednost u odnosu prema primjeni nakon drugog napadaja radi postizanja bolje prognoze odnosno dulje remisije. U literaturi je malen broj radova koji se odnose na navedenu tematiku u dječjoj populaciji, ali je dokazano da su mogući teški farmakološki i psihosocijalni neželjeni učinci antiepileptičkih lijekova. Stoga pri donošenju odluke o primjeni AEL-a svakom djetetu treba pristupiti individualno.[8] Nema dovoljno dokaza da antiepileptički lijekovi djeluju preventivno na razvoj epilepsije pa njihova primjena treba biti opravdana činjenicom da korist od primjene premašuje rizik od neželjenih popratnih pojava. Ipak, osim lošije kvalitete života i mogućnosti kognitivne i psihomotoričke regresije, u oboljelih od epilepsije povećava se učestalost iznenadne smrti (engl. *Sudden unexpected death in epilepsy* – SUDEP), i to čak do 40 puta u odnosu prema prosjeku od 0,1 – 0,2/10.000 djece.[9] Stoga je primarni cilj u liječenju epilepsije smanjiti učestalost napadaja, najčešće primjenom AEL-a.

Sve ove činjenice ILAE uklapa u svoje prijedloge klasifikacije epilepsije i epileptičkih sindroma. Dulje se vrijeme održala klasifikacija koja je epilepsije dijelila na idiopatske kojima se uzrok nije mogao odrediti te na simptomatske pri kojima je bolest nastala kao posljedica neke poznate bolesti središnjega živčanog sustava, somatske bolesti ili ozljede mozga.[10,11,12,13]

Nove klasifikacije za određivanje tipa i etiologije epilepsije, epileptičkog sindroma ili tipa napadaja u djece i odraslih pružaju određene informacije i o prognozi epilepsije i izboru AEL-a.[7,14]

Važno je navesti da je u tablice našeg postupnika za terapiju epileptičkih napadaja uvrštena novija klasifikacija napadaja iz 2017. godine,[14] uz uporabu priručnika ILAE-a iz 2017. godine koji služi kao pomoć u prihvaćanju novije bazične i proširene podjele epileptičkih napadaja.[15] Uzimajući u obzir činjenicu da novija klasifikacija epileptičkih napadaja ne zadire sustav-

Tablica 1. Preporučene dnevne doze, broj dnevnih doza i maksimalne dnevne doze antiepileptičkih lijekova pri liječenju djece s epilepsijom[8,30,37–39]

Table 1. Recommended daily doses, number of daily doses and maximal daily doses of antiepileptic therapy in children with epilepsy[8,30,37,38,39]

Lijek/Drug	Dnevna doza (mg/kg/d ili mg/d) Daily dose (mg/kg/d or mg/d)	Broj doza/dan /Number of doses/day	Maksimalna dnevna doza (mg ili g) /Maximal daily dose (mg or g)
Acetazolamid (ACZ)	10 – 20 mg/d (8 – 30)	2 – 3	1 g
Brivaracetam (BRV)	> 16 godina/years: 25 – 100 mg/d	1 – 2	200 mg
Eslikarbazepin (ESL)	> 4 godine/years: 400 – 1000 mg/d	1	800 – 1200 mg
Etosuksimid (ETS)	5 – 35 mg/kg/d	2 – 3	1,5 g
Everolimus (EVR)	Površina tijela/Body surface area: 0,5 – 1,2 m^2 2,5 mg/d 1,3 – 2,1 m^2 5,0 mg/d ≥ 2,2 m^2 7,5 mg/d	1	12,5 mg/kg/d
Felbamat (FBM)	> 2 godine/years: 15 – 45 mg/kg/d	3 – 4	2 – 14 godina/years: 1200 mg > 14 godina/years: 3600 mg
Fenobarbiton (PB)	< 2 mjeseca/months: 3 – 5 mg/kg/d 2 mjeseca/months – 2 godine/years: 5 – 8 mg/kg/d > 2 godine/years: 3 – 5 mg/kg/d	1 – 2	60 – 200 mg
Fenitoin (PHT)	< 1 godine/years: ≤ 15 mg/kg/d > 1 godine/years: 5 – 10 mg/kg/d	1 – 2	300 mg 400 mg (adolescenti/adolescents)
Gabapentin (GBP)	30 – 45 mg/kg/d	3	900 – 1800 mg
Karbamazepin (CBZ)	< 6 godina/years: 10 – 35 mg/kg/d 6 – 12 godina/years: 100 – 1000 mg/d > 12 godina/years: 200 – 1800 mg/d	1 – 4[1]	< 6 godina/years: 35 mg/kg 6 – 12 godina/years: 400 – 1000 mg > 12 godina/years: 400 – 1800 mg
Klobazam (CLB)	< 12 godina/years: 0,1 – 1,0 mg/kg/d > 12 godina/years: 5 – 40 mg/d	1 – 3 1 – 2	< 30 kg: 20 mg > 30 kg: 40 mg
Klonazepam (CZP)	< 10 godina/years: 0,01 – 0,05 mg/kg/d > 10 godina/years: 0,25 – 10 mg/d	2 – 3 1 – 3	< 30 kg: 0,5 mg/kg > 30 kg: 20 mg
Lakozamid (LCM)	> 4 godine/years: 2 – 8 mg/kg/d	2	150 – 300 mg
Lamotrigin (LTG)	2 – 12 godina/years: 4,5 – 7,5 mg/kg/d[2] > 12 godina/years: 225 – 375 mg/d[2]	1 – 2	200 – 500 mg[2]
Levetiracetam (LEV)	30 – 60 mg/kg/d	2	< 20 kg: 25 – 42 mg/kg 20 – 40 kg: 1500 mg (maks. 60 mg/kg) > 40 kg: 3000 mg (maks. 60 mg/kg)
Okskarbazepin (OXC)	10 – 46 mg/kg/d 20 kg: 300 – 450 mg × 2 25 – 30 kg: 450 – 600 mg × 2 35 – 45 kg: 450 – 750 mg × 2 50 – 55 kg: 600 – 900 mg × 2 60 – 70 kg: 600 – 1050 mg × 2	2	 20 kg: 900 mg 25 – 30 kg: 1200 mg 35 – 45 kg: 1500 mg 50 – 55 kg: 1800 mg 60 – 70 kg: 2100 mg
Perampanel (PER)	8 – 10 mg/dan	1	> 12 godina: 8 – 12 mg
Rufinamid (RFM)	> 1 godine/year: 25 – 45[2] mg/kg/d	2	< 30 kg: 1000 mg 30 – 50 kg: 1800 mg 50 – 70 kg: 2400 mg > 70 kg: 3200 mg

Lijek/Drug	Dnevna doza (mg/kg/d ili mg/d) Daily dose (mg/kg/d or mg/d)	Broj doza/dan /Number of doses/day	Maksimalna dnevna doza (mg ili g) /Maximal daily dose (mg or g)
Stiripentol (STP)	> 3 godine/years: 10 – 50 mg/kg/d	2 (3)	50 mg/kg
Sultiam (STM)	10 – 20 mg/kg/d	2 – 3	400 mg
Tiagabin (TGB)	0,1 – 2,0 mg/kg/d	2 (3 – 4)	> 12 godina/years: 32 mg/kg[3]
Topiramat (TPM)	4 – 9 mg/kg/d	2	≤ 11 kg: 150 – 250 mg 12 – 22 kg: 200 – 300 mg 23 – 31 kg: 200 – 350 mg 32 – 38 kg: 250 – 350 mg > 38 kg: 250 – 500 mg
Valproati (VPA)	10 – 30 mg/kg/d	2[4]	30 – 60 mg/kg[5,6]
Vigabatrin (VGB)	50 – 150 mg/kg/d	2	≤ 2 godine: 150 mg/kg/d 25 – 60 kg: 1000 mg > 60 kg: 3000 mg
Zonisamid (ZNS)	> 6 godina/years i/and > 20 kg: 1 – 8 mg/kg/d (maks. 12 mg/kg)	2	> 6 godina: 400 – 600 mg

Napomene/Remarks:
[1] Preparat karbamazepina sa sporim otpuštanjem (Tegretol CR) može se dati 1 – 2 × na dan, ovisno o vremenu javljanja napadaja. /Slow releasing form of carbamazepine (Tegretol CR) can be given 1-2× daily, depending on the seizure event.
[2] Potrebna je prilagodba doze lamotrigina uz VPA i AEL-e koji induciraju glukuronidazu. /There is a need for the dosage adjustment of lamotrigine if taken with VPA and AEDs that induce glucuronidase.
[3] Kada rabimo rufinamid uz valproat, ukupna je dnevna doza oko 20 mg/kg/dan. /When we use rufinamide with valprates, the daily dosage is around 20 mg/kg/day.
[4] Maksimalna doza tiagabina jest 45 mg/kg, uz AEL-e koji induciraju enzime. /Maximal daily tiagabine dose is 45 mg/kg, with AED that induce enzymes.
[5] CR-preparat tableta valproata (Depakine CR) obično dajemo jedanput na dan, a kapi ili sirup i do triput na dan./Tablets with CR form of valproates (Depakine CR) are usually given once daily, while drops and suspensions are given up to three times daliy.
[6] Maksimalna dnevna doza valproata za starije adolescente iznosi do 3000 mg/dan. /Maximal daily dose of valproates for older adolescents is up to 3000 mg/day.

no u odabir lijekova u kliničkoj praksi, na tablicama je naveden samo dio novije bazične klasifikacije epileptičkih napadaja prema Fisheru i ostalima,[15] a važan je pri odabiru lijekova u praksi. Podjela i klasifikacija epileptičkih napadaja i epilepsija nisu tema ovoga terapijskog postupnika.

Farmakoterapija epilepsije u djece temelji se na saznanjima o utjecaju AEL-a većinom u odrasle populacije, a manje je istraživanja provedeno o njihovim mogućim kratkoročnim i dugoročnim učincima na rast i razvoj, ponašanje, intelektualne funkcije i obrasce spavanja. Izgledno je da noviji AEL-i imaju prihvatljiviji sigurnosni profil, ali još nema dovoljno dugotrajnih studija pa je potreban oprez.[16,17]

Potrebno je napomenuti da načela liječenja epilepsije ne obuhvaćaju samo farmakoterapiju. Kada je uzrok epilepsije poznat i može se liječiti kirurški, prednost valja dati kirurškom, tj. etiološkom liječenju ili nekirurškom liječenju neurostimulacijom (implantacijom vagusnog stimulatora ili dubokih elektroda u jezgre talamusa). U najtežim oblicima epilepsija/epileptičkih encefalopatija s ranim početkom u prvim danima života neurokirurško liječenje tijekom dojenačke dobi (najčešće hemisferotomija) znači ranu intervenciju kojom se sprječava razvoj psihomotorne i somatske regresije, a u krajnjem slučaju i smrtnog ishoda za vrijeme recidivnih epileptičkih statusa. Nekirurško liječenje ili neurostimulaciju vagusnim stimulatorom ili implantacijom dubokih elektroda potrebno je primijeniti ako bolesnik nije kandidat za neurokirurško liječenje.

Treba naglasiti da su nasljedne metaboličke bolesti važan uzrok epilepsija uz genske, upalne i autoimunosne epilepsije, što je potrebno isključiti i prikladno liječiti.[18] Steroidi i imunosna terapija imaju vrlo važno mjesto u terapiji epilepsija, kao i epilepsija s upalnom i autoimunosnom etiologijom u djece.[19] Ketogena dijeta i njezine modifikacije važne su pri liječenju nekih metaboličkih uzroka (poremećaj transportera glukoze), posebno refraktornih epileptičkih statusa, mioklonih epilepsija i epileptičkih encefalopatija, a osobito Dravetina sindroma, Westova sindroma te mioklono-astatske epilepsije.[20,21]

Tablica 2. A. Preporuke za antiepileptičke lijekove prvog izbora, drugog izbora/dodatnu terapiju recidivnih napadaja te antiepileptike s rizikom od pogoršanja napadaja (modificirano prema referencijama 8., 30., 32. – 34. i 37. – 39.)
Table 2A. Recommendations for antiepileptic drugs of the first choice, second choice/ add-on therapy for recurrent seizures and antiepileptics with the risks of aggravation (modified according to: 8, 30, 32, 33, 34, 37, 38, 39)

Tip recidivnih napadaja /Type of seizures	Lijekovi prvog izbora /First choice therapy	Lijekovi drugog izbora/ dodatna terapija /Second choice drugs/ add-on therapy	Izbjegavajte (moguće pogoršanje) /Avoid (possible aggravation)
Napadaji sa žarišnim početkom /Seizures with focal onset	OXC, CBZ	LEV, LCM, TPM, ZNS, CLB, LTG, VPA, PHT, TGB, ESL, PB	
Napadaji s generaliziranim početkom – nemotorički (apsansi) /Seizures with generalized onset – non-motoric (absence)	ESM[1], LTG, VPA	CLZ, LEV, ZNS, TPM	CBZ, GBP, OXC, PHT, PGB, TGB, VGB
Napadaji s generaliziranim početkom – motorički (toničko-klonički i ostali motorički) /Seizures with generalized onset – motoric (tonic-clonic and other motoric)	LEV[1,2], VPA Za epileptičke spazme: /For epileptic spasms: VGB[3]	ZNS, LTG[2], TPM, CLB, CZP, ESM, RFM	ako uz toničko-kloničke napadaje dolazi i do apsansa ili mioklonih napadaja: /(in case of absence or myoclonic seizures): CBZ, GBP, OXC, PHT, PGB, TGB, VGB

[1] Prvi lijek izbora za djevojčice i djevojke zbog teratogenog potencijala VPA. /The first choice therapy in girls due to the teratogenic potential of VPA.
[2] Oprez, jer LEV i LTG mogu agravirati mioklone napadaje./Caution due to the possible aggravation of myoclonic seizures by LEV and LTG.
[3] Detalji o prvoj i dodatnoj terapiji epileptičkih spazama navedeni su na tablici 2. B. /Details on the first and add-on therapy of epileptic spasms are listed in table 2B

Pokrate/Abbreviations: ACZ – acetozolamid/acetazolamide; CBZ – karbamazepin/carbamazepine; CLB – klobazam/clobazam; CZP – klonazepam/clonazepam; ESL – eslikarbazepin/eslicarbazepine; ESM – etosuksimid/ethosuximide; EVR – everolimus/everolimus; GBP – gabapentin/gabapentin; LCM – lakozamid/lacosamide; LEV – levetiracetam/levetiracetam; LTG – lamotrigin/lamotrigine; OXC – okskarbazepin/oxcarbazepine; PGB – pregabalin/pregabalin; PB – fenobarbiton/phenobarbiton; PHT – fenitoin/phenytoin; RFM – rufinamid/rufinamide, STM – sultiam/sulthiam; VPA – Na valproat, valproatna kiselina/Na valproate, valproic acid; TGB – tiagabin/tiagabine; TPM – topiramat/topiramate; VGB – vigabatrin/vigabatrin; ZNS – zonisamid/zonisamide

Povjerenstvo za analizu i preporuke o primjeni indijske konoplje i kanabinoida u medicinske svrhe pri Ministarstvu zdravstva RH nije preporučilo uporabu pripravaka kanabinoida/kanabisa za liječenje epilepsije/konvulzivnih stanja, uz izuzetak Dravetina sindroma za koji su predložili pokretanje usklađivanja i promjena zakonskih regulativa. U međuvremenu je, 2017. godine, lijek Epidiolex (kanabidiol) dobio od EMA-e (engl. *European Medicine Agency*) status lijeka za rijetke bolesti kao što su Dravetin sindrom i Lennox-Gastautov sindrom.

Načela farmakoterapije epilepsije u djece

Dijagnostiku, terapiju i praćenje epilepsije i epileptičkih sindroma u djece u Republici Hrvatskoj provodi specijalist pedijatar, najčešće s užom specijalizacijom iz pedijatrijske neurologije. Članovi Hrvatskog društva za dječju neurologiju kontinuirano surađuju s udrugama kao što su Hrvatska liga protiv epilepsije (HLPE) i Hrvatska udruga za epilepsiju (i njihovi su članovi) koje djeluju na području Republike Hrvatske, zastupaju interese osoba s epilepsijom i promiču kvalitetu njihova života. Članovi Hrvatskog društva za dječju neurologiju i HLPE-a uzajamno se podupiru i surađuju pri izradi i provođenju smjernica za liječenje epilepsije u djece i adolescenata.[22,23]

Pri terapiji epilepsija u djece potrebno je primijeniti prihvaćene kriterije/principe, a najvažniji su: postavljanje pouzdane dijagnoze epilepsije prije uvođenja AEL-a prema prihvaćenim kriterijima, određivanje epileptičkog sindroma ili tipa napadaja u djece koje pruža informacije o prognozi moguće epilepsije i izboru liječenja, započinjanje liječenja primjenom jednog lijeka – lijekom prvog izbora (prednosti monoterapije jesu manji broj mogućih neželjenih popratnih pojava i zanemarive moguće interakcije lijekova), propisivanje AEL-a prema generičkom nazivlju pojedinog lijeka, a ne prema farmaceutskom/tvornički zaštićenom imenu. Liječenje epilepsije može biti započeto izvornim (originalnim) lijekom ili generičkim (ako je dostupan).

Veći broj AEL-a nema prilagođenih pripravaka za dojenčad i malu djecu (kapi, sirup), stoga se terapija, odnosno dnevne doze lijeka za navedene pedijatrijske dobne skupine pripravljaju od pripravaka predviđenih za terapiju djece i odraslih bolesnika (tablete, kapsule). Radovi upućuju na činjenicu da je bolja/veća djelo-

Tablica 2. B. Preporuke za antiepileptički lijek prvog izbora, drugog izbora/dodatnu terapiju epilepsija i epileptičkih sindroma u djece i antiepileptičke lijekove s rizikom od pogoršanja napadaja (modificirano prema referencijama 8., 30. i 37. – 39.)

Table 2B. Recommendations for antiepileptic drugs of the first choice, second choice/ add-on therapy for epilepsy and epileptic syndromes in children, and antiepileptics with the risks of aggravation (modified according to: 8, 30, 37, 38, 39)

Tip epilepsije i epileptičkog sindroma /Type of epilepsy and epileptic syndrome	Lijekovi prvog izbora /First choice drugs	Lijekovi drugog izbora/ dodatna terapija /Second choice drugs/ add-on therapy	Izbjegavajte (moguće pogoršanje) /Avoid (possible aggravation)
Epilepsija dječje dobi s napadajima tipa apsansa ili ostali sindromi s apsansom (Jeavonsov sindrom) /Childhood absence epilepsy or other syndromes with absence (Jeavons syndrome)	ESM, VPA	ESM, LTG, VPA, ACZ	CBZ, GBP, OXC, PHT, PGB, TGB, VGB
Juvenilna epilepsija s apsansima ili drugi sindromi s apsansom/Juvenile absence epilepsy or other syndromes with absence	ESM, VPA	ESM, LTG, VPA, ACZ	CBZ, GBP, OXC, PHT, PGB, TGB, VGB
Juvenilna mioklona epilepsija /Juvenile myoclonic epilepsy	VPA, LEV	LTG, LEV, VPA, TPM	CBZ, GBP, OXC, PHT, PGB, TGB, VGB
Nasljedna generalizirana epilepsija s toničko-kloničkim napadajima /Genetic generalized epilepsy with tonic-clonic seizures	VPA, LEV	TPM, LTG, ZNS	CBZ, GBP, OXC, PHT, PGB, TGB, VGB
Epilepsija dječje dobi s centrotemporalnim šiljcima /Childhood epilepsy with centrotemporal spikes	CBZ, OXC	LEV, CLB, GBP, LTG, VPA, TPM, ZNS, STM	
Okcipitalna dječja epilepsija s ranim početkom (Panayiotopoulosov sindrom) /Childhood occipital epilepsy with early-onset (Panayiotopoulos syndrome)	OXC, CBZ, LEV	CLB, GBP, LTG, VPA, TPM, ZNS	
Okcipitalna dječja epilepsija s kasnim početkom (Gastautov tip) /Childhood occipital epilepsy with early-onset (Gastaut syndrome)	OXC, CBZ, LEV	CLB, GBP, LTG, VPA, TPM, ZNS	
Rane epileptičke encefalopatije s epileptičkim spazmima) /Early epileptic encephalopathies, with epileptic spasms	VGB, VPA Steroidi (steroids), ACTH	LEV, ZNS, TPM	
Epilepsije u bolesnika s tuberoznom sklerozom /Epilepsies in tuberous sclerosis	VGB	EVR*	
Dravetin sindrom/Dravet syndrome	VPA, CLB, STP	TPM, ZNS, VPA, PER	CBZ, GBP, LTG, OXC, PHT, PGB, TGB, VGB
Lennox-Gastautov sindrom/Lennox-Gastaut syndrome	VPA, LTG, RFM	LEV, TPM, ZNS, CLB, CZP, steroidi, FBM	CBZ, GBP, OXC, PGB, TGB, VGB
Landau-Kleffnerov sindrom/Landau-Kleffner syndrome	VPA, ESM, CLB	ACZ, STM, CZP	
Epileptička encefalopatija s kontinuiranim šiljak-valom u sporovalnom spavanju/Epileptic encephalopathy with continuous spike-wave in slow wave sleep	CLB, VPA, LEV	ESM, ACZ, STM, TPM, steroidi, ZNS	CBZ, OXC, VGB
Mioklona-astatska epilepsija (Dooseov sindrom) /Myoclonic astatic epilepsy (Doose syndrome)	VPA, LEV, RFM	LTG, TPM, ACZ	CBZ, OXC, ESL, VGB, PHT

***Everolimus** – inhibitor mTOR-a (engl. mammalian target of rapamycin) apsolutno je indiciran u dojenčadi i djece s TS-om i inoperabilnim tumorom mozga SEGA (engl. Subependymal Giant Cell Astrocytoma). Everolimus je opravdan i kao terapija drugog izbora u djece s TS-om i farmakorezistentnom epilepsijom ako je isključena mogućnost neurokirurškog liječenja.[67]/**Everolimus** – mTOR inhibitor is absolutely indicated in infants and children with TS and inoperable brain tumor SEGA. Everolimus is also justified as the second choice therapy in children with TS and pharmacoresistant epilepsy if the possibility of neurosurgical treatment is excluded[67]

Pokrate/Abbreviations: ACZ – acetozolamid/acetazolamide; CBZ – karbamazepin/carbamazepine; CLB – klobazam/clobazam; CZP – klonazepam/clonazepam; ESL – eslikarbazepin/eslicarbazepine; ESM – etosuksimid/ethosuximide; EVR – everolimus/everolimus; GBP – gabapentin/gabapentin; LCM – lakozamid/lacosamide; LEV – levetiracetam/levetiracetam; LTG – lamotrigin/lamotrigine; OXC – okskarbazepin/oxcarbazepine; PGB – pregabalin/pregabalin; PHT – fenitoin/phenytoin; RFM – rufinamid/rufinamide; STM –sultiam/sulthiam; VPA – Na valproat, valproatna kiselina/Na valproate, valproic acid; TGB – tiagabin/tiagabine; TPM – topiramat/topiramate; VGB – vigabatrin/vigabatrin; ZNS – zonisamid/zonisamide

Tablica 3. Antiepileptički lijekovi u liječenju djece – mehanizmi djelovanja, farmakokinetika, supstrati, induktori i inhibitori CYP-a[35–41]

Table 3. Antiepileptic drugs in the treatment of children -mehanisms of action, pharmacokynetics, CYP substrates, inductors and inhibitors[35–41]

Antiepileptički lijek/ Antiepileptic drug	Važni mehanizmi djelovanja/ Important mechanims of action	T ½ eliminacije (sati)/ T ½ elimination (hours)	Vezanje za proteine (%)/ Protein binding %	Eliminacija/ Elimination	Supstrati, induktori, inhibitori CYP-a/ CYP substrates, inductors inhibitors
Antiepileptički lijek /Antiepileptic drug	Važni mehanizmi djelovanja /Important mechanims of Action	T ½ eliminacije (sati) /T ½ elimination (hours)	Vezanje za proteine (%) /Protein binding %	Eliminacija /Elimination	Supstrati, induktori, inhibitori CYP-a /CYP susptrates, inductors inhibitors
Acetazolamid (ACZ)	Inhibitor karboanhidraze /Carboanhydrase inhibitor	3 – 9	70 – 90	Renalna ekskrecija /Renal excretion	Ne/No
Brivaracetam (BRV)	Modulator proteina SV2A /SV2A protein modulator	7 – 8	< 20	Jetra (90%), renalna ekskrecija (10%) /Liver 90%, renal excretion 10%	Inhibicija CYP2C19 /CYP2C19 inhibition
Eslikarbazepin (ESL)	Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage	13 – 20	< 40	Glukuronidacija /Glucuronidation	Indukcija CYP3A4 /CYP3A4 induction
Etosuksimid (ETS)	Blokator kanala Ca2+ (T-tip)/Ca2+ channel blockage (T type)	25 – 70	0 – 5	Oksidacija/Oxidation	Supstrat CYP3A4 /CYP3A4 substrate
Everolimus (EVR)	Inhibitor mTOR-a /mTOR inhibitor	30	74	Feces (80%), renalna ekskrecija (5%) /Feces 80%, renal excretion (5%)	Supstrat CYP3A4, CYP3A5 CYP2C8 /CYP3A4, CYP3A5 CYP2C8 substrate
Felbamat (FBM)	Inhibitor glutamatnih receptora NMDA-e /NMDA glutamate receptor inhibitor Agonist GABA-e /GABA agonist	16 – 22	25	Oksidacija/Oxidation Renalna ekskrecija /Renal excretion	Supstrat CYP 3A4, 2E1 /CYP 3A4, 2E1 substrate Indukcija CYP3A4 /CYP3A4 induction Inhibicija CYP2C19 /CYP2C19 inhibition
Fenobarbiton (PB)	Agonist receptora GABA-e /GABA receptor agonist	40 – 70	40 – 50	Oksidacija/Oxidation Konjugacija /Conjugation Renalna ekskrecija /Renal excretion	Supstrat CYP2C9, 2C19, 2E1 /CYP2C9, 2C19, 2E1 substrate Indukcija CYP3A4, 2C9, 1A2 /CYP3A4, 2C9, 1A2 induction
Fenitoin (PHT)	Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage	20 – 40	90	Oksidacija/Oxidation	Supstrat CYP2C9, 2C19 /CYP2C9, 2C19 supstrate Indukcija CYP3A4, 2C9, 1A2 /CYP3A4, 2C9, 1A2 induction Inhibicija CYP2C9 /CYP2C9 inhibition
Gabapentin (GBP)	Blokator kanala Ca2+ (P/Q-tip) /Ca2+ channel blockage (P/Q type)	5 – 40	0	Renalna ekskrecija /Renal excretion	Ne/No
Karbamazepin (CBZ)	Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage	15 – 40	40 – 90	Oksidacija/Oxidation	Supstrat CYP3A4 i epoksid-hidrolaze /CYP3A4 substrate and epoxide hydrolase Indukcija CYP3A4, 2C9, 1A2 /CYP3A4, 2C9, 1A2 induction
Klobazam (CLB)	Agonist receptora GABA-e /GABA receptor agonist	32	80 – 90	Oksidacija/Oxidation	Degradacija CYP3A4 /CYP3A4 degradation

Antiepileptički lijek/ Antiepileptic drug	Važni mehanizmi djelovanja/ Important mechanims of action	T ½ eliminacije (sati)/ T ½ elimination (hours)	Vezanje za proteine (%)/ Protein binding %	Eliminacija/ Elimination	Supstrati, induktori, inhibitori CYP-a/ CYP substrates, inductors inhibitors
Klonazepam (CZP)	Agonist receptora GABA-e /GABA receptor agonist	30 – 40	85	Oksidacija/Oxidation	Degradacija CYP3A4 /CYP3A4 degradation
Lakozamid (LCM)	Blokator kanala Na+ (blokira sporu inaktivaciju) /Na+ channel blockage (blocks the slow inactivation)	13	< 15	Demetilacija /Demethylation	Ne/No
Lamotrigin (LTG)	Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage	25 – 33	40 – 50	Konjugacija /Conjugation	Ne/No
Levetiracetam (LEV)	Modulator SV2A /SV2A modulator	7 – 10	< 10	Hidroliza/Hydrolysis Renalna ekskrecija /Renal excretion	Ne/No
Okskarbazepin (OXC)	Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage	9 (aktivni metabolit) /(active metabolite)	40	Konjugacija /Conjugation Renalna ekskrecija /Renal excretion	Indukcija CYP3A4 /CYP3A4 induction Inhibicija CYP2C19 /CYP2C19 inhibition
Perampanel (PER)	Selektivni antagonist glutamatnih receptora AMPA-e/AMPA glutamate receptor selective antagonist	105	95 – 96	Oksidacija/Oxidation Glukuronidacija /Glucuronidation	Supstrat CYP3A4 /CYP3A4 substrate Indukcija CYP3A4 /CYP3A4 induction
Rufinamid (RFM)	Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage	6 – 10	26 – 35	Hidroliza/Hydrolysis Glukuronidacija /Glucuronidation	Indukcija CYP3A, CYP3A4 /CYP3A, CYP3A4 induction Inhibicija CYP2E1 /CYP2E1 inhibition
Stiripentol (STP)	Agonist receptora GABA-A /GABA A receptor agonist	4,5 – 13	99	Oksidacija/Oxidation Hidroksilacija /Hydroxylation Metilacija/Methylation Glukuronidacija /Glucuronidation	Inhibicija CYP 1A2, 3A4, 2C19, 2D6/CYP 1A2, 3A4, 2C19, 2D6 inhibition
Sultiam (STM)	Inhibitor karboanhidraze /Carbonic anhydrase inhibitor	9 – 15	29	Jetra (70%), bubreg (30%)/Liver 70%, kidney 30%	Ne/No
Tiagabin (TGB)	Agonist GABA-e (blokira ponovnu pohranu GABA-e)/GABA agonist (block GABA re-uptake)	5 – 13	95	Oksidacija/Oxidation	Supstrat CYP3A4 /CYP3A4 substrate
Topiramat (TPM)	Agonist GABA-A /GABA A agonist, Inhibitor AMPA-e i kainatnih glutamatnih receptora/AMPA and kainate glutamate receptor inhibitor Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage Blokator kanala Ca2+ /Ca2+ channel blockage Inhibitor karboanhidraze /Carboanhydrase inhibitor	18 – 21	15	Oksidacija/Oxidation Konjugacija /Conjugation	Indukcija CYP3A4 (> 200 mg/d)/CYP3A4 (> 200 mg/d) induction Inhibicija CYP2C19 /CYP2C19 inhibition
Valproati (VPA)	Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage Agonist GABA-e /GABA agonist Blokator kanala Ca2+ /Ca2+ channel blockage	8 – 15	90 – 95	Glukuronidacija /Glucuronidation, Beta-oksidacija u mitohondrijima /Beta oxidation in mitochondria Oksidacija posredovana citokromom P450 /Cytochrom P450 oxidation	Supstrat CYP2A6, 3A5, 2C9, 2C19, 2B6 i mitohondrijske oksidaze/CYP2A6, 3A5, 2C9, 2C19, 2B6 and mitochondrial oxidase – substrate Inhibicija CYP2C9, CYP3A4 i epoksid-hidrolaze /CYP2C9, CYP3A4 and epoxide hydrolase – inhibition

Antiepileptički lijek/ Antiepileptic drug	Važni mehanizmi djelovanja/ Important mechanims of action	T ½ eliminacije (sati)/ T ½ elimination (hours)	Vezanje za proteine (%)/ Protein binding %	Eliminacija/ Elimination	Supstrati, induktori, inhibitori CYP-a/ CYP substrates, inductors inhibitors
Vigabatrin (VGB)	Agonist GABA-e (inhibitor GABA-transaminaze) /GABA agonist (GABA transaminase inhibitor)	5 – 8	0	Renalna ekskrecija /Renal excretion	Ne/No
Zonisamid (ZNS)	Blokator kanala Na+ /Na+ channel blockage Blokator kanala Ca2+ /Ca2+ channel blockage Inhibitor karboanhidraze /Carbonic anhydrase inhibitor Agonist GABA-e /GABA agonist	24 – 60	40 – 60	Oksidacija/Oxidation Redukcija/Reduction Acetilacija/Acetilation Renalna ekskrecija /Renal excretion	Supstrat CYP3A4 i N-acetil transferaze /CYP3A4 and N-acetyl transferase – substrate

Pokrate/Abbreviations: ACZ – acetozolamid/acetazolamide; CBZ – karbamazepin/carbamazepine; CLB – klobazam/clobazam; CZP – klonazepam/clonazepam; ESL – eslikarbazepin/eslicarbazepine; ESM – etosuksimid/ethosuximide; EVR – everolimus/everolimus; GBP – gabapentin/gabapentin; LCM – lakozamid/lacosamide; LEV – levetiracetam/levetiracetam; LTG – lamotrigin/lamotrigine; OXC – okskarbazepin/oxcarbazepine; PB – fenobarbiton/phenobarbiton; PGB – pregabalin/pregabalin; PHT – fenitoin/phenytoin; RFM – rufinamid/rufinamide; STM – sultiam/sulthiam; VPA – Na valproat, valproatna kiselina/Na valproate, valproic acid; TGB – tiagabin/tiagabine; TPM – topiramat/topiramate; VGB – vigabatrin/vigabatrin; ZNS – zonisamid/zonisamide

tvornost pripravaka prilagođenih za primjenu u dojenčadi i male djece, dakle otopina/sirupa u odnosu prema AEL-ima koji se primjenjuju iz pripravaka za odrasle/stariju djecu.[24]

Uvođenje AEL-a započinje najnižom preporučenom dozom, postupno se povisuje do preporučene doze održavanja, odnosno do kontrole napadaja (ili do trenutka pojave neželjenih popratnih učinaka lijeka ako nije postignuta kontrola napadaja maksimalnom preporučenom dozom lijeka). Optimalna razina lijeka može se postići i nižom dozom od terapijske.

Tijekom liječenja određenim AEL-ima obvezatno je pratiti serumsku razinu lijeka (fenitoin). Određivanje koncentracije ostalih AEL-a opravdano se provodi u svih AEL-a samo ako se razvijaju neželjene popratne pojave, ako su epileptički napadaji učestali ili nekontrolirani odnosno ako se radi o epileptičkom statusu ili se sumnja na nepravilnu primjenu lijeka.

Ako se maksimalnom dopuštenom dozom izabranog AEL-a ne postiže zadovoljavajuća kontrola napadaja ili su nastupile teške neželjene popratne pojave, potrebno je uvesti drugi antiepileptički lijek. Kad je moguće, doza prvog uvedenog AEL-a postupno se snižava do potpunog ukidanja.[8] Nije preporučljivo naglo prekidati primjenu AEL-a zbog mogućnosti provociranja serije napadaja (npr., fenobarbiton) ili čak epileptičkog statusa. Iznimka su idiosinkratične reakcije na određeni lijek kada se primjena odmah prekida. U pojedinim rezistentnim epilepsijama ili određenim epileptičkim sindromima preporučuje se i može se primijeniti kombinirano liječenje s dva ili više AEL-a, po mogućnosti sinergijskog djelovanja (racionalna politerapija), sukladno tipu epileptičkih napadaja. Treba izbjegavati kombiniranje lijekova srodnih kemijskih skupina i sličnih neželjenih popratnih pojava. Neki antiepileptički lijekovi u međusobnoj kombinaciji povećavaju toksični učinak terapije (toksičnost karbamazepina u kombinaciji s lamotriginom i valproatom, a etosuksimid vjerojatno povećava toksičan učinak fenitoina). Doziranje AEL-a individualno je, ovisno o dobi i općem zdravstvenom stanju bolesnika, tipu epileptičkih napadaja te o individualnoj podnošljivosti lijeka. Broj dnevnih doza i brzina povišenja doze lijeka ovise o serumskom poluživotu određenog AEL-a. Intervali između dvije doze trebaju biti nešto kraći od poluživota primijenjenog lijeka. U novorođenčadi, dojenčadi i male djece, zbog bržeg metabolizma, farmakokinetskih i farmakodinamskih obilježja te većeg volumena distribucije, AEL-i se primjenjuju učestalije i u višoj dozi.

Tijekom liječenja potrebne su redovite kliničke i laboratorijske kontrole, ponajprije zbog mogućih nuspojava AEL-a. Uobičajeno se prate ovi laboratorijski parametri: kompletna krvna slika (KKS), alanin aminotransferaza (ALT), aspartat aminotransferaza (AST), gama-glutamil transferaza (GGT), alkalna fosfataza (AF), natrij (Na) i kalij (K). Koncentracija lijeka prati se najčešće pri izostanku povoljnog odgovora na terapiju ili nuspojavama, acidobazni status ako se primjenjuju topiramat, zonisamid i sultiam, a pri osteopeniji jedanput na godinu valja kontrolirati kalcij (Ca), fosfate (P) i alkalnu fosfatazu te vitamin D3 uz eventualnu

denzitometriju. Posebnu pozornost treba obratiti na kožne reakcije. Neželjene popratne pojave najčešće se javljaju tijekom prva 4 – 6 mjeseci liječenja.

U djece lijek prvog izbora nikada ne bi smio biti onaj koji može dovesti do znatnijih poremećaja ponašanja, kognitivnih smetnja ili psihičkih/psihijatrijskih poremećaja. Primjena AEL-a tijekom trudnoće nosi rizik od teratogenosti, a posebno je osjetljivo razdoblje tijekom prva tri mjeseca trudnoće. Stoga je razložno procijeniti prelazi li rizik od ponavljanih napadaja rizik od teratogeneze, pogotovo u mladih djevojaka i u načelu valja primjenjivati monoterapiju. Poznato je da neki lijekovi imaju teratogeni učinak (rizik) (osobito valproati), a nadasve politerapija s više AEL-a u trudnoći.

Trajanje liječenja epilepsije varijabilno je, a ovisi o kliničkom, elektroencefalografskom (tip epilepsije ili epileptičkog sindroma) i psihičkom statusu bolesnika. Treba naglasiti da su epileptički sindromi u djece ovisni o dobi i njihov je razvoj rezultat sazrijevanja središnjega živčanog sustava, stoga je za odluku o terapiji iznimno važna dob djeteta. Većina neuropedijatara u Europi i svijetu zauzima stajalište prema kojem liječenje epilepsije treba kontinuirano provoditi tijekom dvije do pet godina nakon potpunog prestanka napadaja i uz zadovoljavajući nalaz EEG-a, a zatim se lijek pod kontrolom može postupno isključivati.

Lijekovi izbora pri farmakoterapiji epilepsija u djece – medicina temeljena na dokazima

Za procjenu terapijskih preporuka AEL-a upotrijebljeni su klasifikacija Američke neurološke akademije (engl. *American Academy of Neurology* – AAN) klasa I – IV i sustav GRADE (engl. *Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*) (1A – C – jake preporuke i 2A – C – slabe preporuke). Klasu I čini dobro dizajnirana randomizirana klinička studija u populaciji; uzorak je analiziran uniformno u vremenu, evaluacija ishoda procjenjuje se neovisno (slijepo) u odnosu prema kliničkoj prezentaciji; svi bolesnici imaju istu dijagnozu, isti dijagnostički ili terapijski postupak. U studiji klase II statistički uzorak bolesnika randomiziran je, a ne populacijski; > 80% ima istu dijagnozu, isti dijagnostički ili terapijski postupak procjene ishoda (slijepa) u odnosu prema bolesnikovu kliničkom prikazu. U studiji klase III uzorak je selektivan, hospitalizirani bolesnici praćeni su tijekom trajanja bolesti, a neki od bolesnika podvrgnuti su (određenom) istom dijagnostičkom ili terapijskom postupku. Procjenu ishoda provodi liječnik koji ne liječi bolesnika. Klasu IV čine mišljenje eksperta i prikaz bolesnika različit od onoga u klasama I – III.[25,26,27]

Snagu praktičnih preporuka temeljenu na analiziranoj literaturi (engl. *AAN practice parameters*) prikazujemo s pomoću četiri razine: razina A – utvrđeno djelotvorna, nedjelotvorna ili štetna (ili utvrđeno korisna/prediktivna ili nekorisna/neprediktivna), razina B – vjerojatno djelotvorna, nedjelotvorna ili štetna (ili vjerojatno korisna/prediktivna ili nekorisna/neprediktivna), razina C – možda djelotvorna, nedjelotvorna ili štetna (ili možda korisna/prediktivna ili nekorisna/neprediktivna) i razina U – podaci su neadekvatni, konfliktni; terapija, test ili prediktor nedokazani.[25,26,27]

Jačinu preporuka i kvalitete dokaza (sustav GRADE) prikazujemo kao tzv. jake preporuke (1A – čvrsta preporuka/visoka kvaliteta dokaza, 1B – čvrsta preporuka/umjerena kvaliteta dokaza, 1C – čvrsta preporuka/niska ili vrlo niska kvaliteta dokaza) i tzv. slabe preporuke (2A – slaba preporuka/visoka kvaliteta dokaza, 2B – slaba preporuka/umjerena kvaliteta dokaza, 2C – slaba preporuka/niska ili vrlo niska kvaliteta dokaza). Mišljenje eksperata i dogovor u grupi preporučuju se pri izostanku odgovarajuće razine dokaza za određeni postupak.[25,26,27]

Kao lijekove prvog izbora za žarišne epilepsije preporučujemo karbamazepin (razina dokaza: klasa 1A (AAN) i GRADE 1B) i okskarbazepin (razina dokaza: klasa 1A (AAN) i GRADE 1B). Antiepileptički lijek prvog izbora za generalizirane epilepsije jest valproat (razina dokaza: klasa 1A (AAN) i GRADE 1A). Međutim, zbog mogućega teratogenog i nepovoljnog učinka na postnatalni razvoj djece izložene *in utero* valproatima i antiepileptičkim lijekovima generički srodnima valproatu kao prvi lijek izbora za generaliziranu epilepsiju bolesnicama se preporučuju levetiracetam (razina dokaza: klasa 1B (AAN) i GRADE 1C) i etosuksimid (potonji za apsanse) (razina dokaza: klasa 1A (AAN) i GRADE 1B), i to od dojenačke do kraja generativne dobi.[28–33] Svakako je opravdana primjena valproata (razina dokaza: klasa 1A (AAN) i GRADE 1B) u djevojčica kao lijeka izbora pri nedjelotvornosti ili nuspojavama antiepileptičkog lijeka prvog izbora za generalizirane epilepsije i kada trudnoća nije vjerojatna zbog težine bolesti.[28–32]

Interakcije antiepileptičkih lijekova u djece

Djeca s tvrdokornom epilepsijom iziskuju katkad i terapiju s više od dva AEL-a pa je potrebno poznavati preporučljive kombinacije lijekova i njihove moguće interakcije.

Preduvjet za poznavanje interakcija antiepileptika jest poznavanje njihova mehanizma djelovanja, farmakodinamskih i farmakokinetičkih osobitosti. Najveći dio AEL-a svoj učinak ostvaruje potencijacijom inhibitorne gabaergičke aktivnosti u središnjemu živča-

nom sustavu (SŽS). Karbamazepin, fenitoin i fenobarbiton lijekovi su koji djeluju na ionske kanale (blokiraju natrijeve kanale regulirane naponom sprječavajući njihovo nekontrolirano izbijanje), a metaboliziraju se u jetri inducirajući enzime citokroma P450 (CYP) te glukuronil transferazu (GT); tako mogu sniziti koncentraciju lijekova koji su supstrati istih enzima (tablica 3.).

Posljednjih 15-ak godina znamo da induktori ili inhibitori CYP-a mogu modulirati i ekspresiju transportera lijekova, kao što su P-glikoprotein (Pgp) i proteini MRP2 i MRP3 u gastrointestinalnom traktu, bubrezima i drugdje,[35] pa noviji AEL-i koji rjeđe induciraju ili inhibiraju aktivnost CYP-a ili GT-a mogu biti meta metabolički posredovanih interakcija.

Neki od novijih AEL u srednjim ili visokim dozama (okskarbazepin, lamotrigin, felbamat i topiramat) induciraju metabolizam oralnih kontraceptiva. AEL-i starije generacije koji također smanjuju efikasnost oralne kontracepcije jesu karbamazepin, fenobarbiton i fenitoin.[36]

Nadalje, neki AEL-i imaju veću mogućnost vezanja za proteine plazme (valproati, fenitoin, tiagabin) (tablica 3.) te pritom terapijski, ali i toksični učinci mogu nastati i pri nižim dozama lijeka (npr., neželjene pojave lamotrigina u kombinaciji s valproatom), stoga je potrebna niža doza lamotrigina u odnosu prema preporučenoj terapijskoj dozi. Toksični učinci fenitoina mogu nastati i bez primjene drugih AEL-a uz taj lijek, i to zbog prijelaza iz jednog tipa kinetike u drugi tip (tzv. 0. red u saturacijsku kinetiku I. reda) i pri nižim dozama fenitoina. S obzirom na farmakodinamske interakcije važno je držati na umu da će neurotoksični učinci biti vjerojatniji ako propisujemo zajedno više AEL-a s istim primarnim mehanizmom djelovanja.

Indikacije za određivanje koncentracije antiepileptičkih lijekova u serumu

Određivanje koncentracije AEL-a u serumu preporučujemo u ovim okolnostima: pri farmakokinetskim osobitostima (npr., fenitoin); ako maksimalnom dopuštenom dozom lijeka nije postignuta očekivana kontrola napadaja; ako se napadaji ponovo javljaju nakon što je epilepsija dulje vrijeme bila dobro kontrolirana i cjelovito evaluirana; pri zamjeni jednog antiepileptičkog lijeka drugime (zbog neučinkovitosti ili neželjenih učinaka); ako je potrebna politerapija (interakcije!); pri pojavi neželjenih popratnih učinaka lijeka: omogućuje razlikovanje toksičnih učinaka (visoka razina) od idiosinkratičnih reakcija na lijek; kod sumnje na neodgovarajuće pridržavanje propisanoga terapijskog režima; u djece s hipoalbuminemijom, one s insuficijencijom bubrega odnosno jetre te tijekom trudnoće (adolescentice).[33,34]

Neželjene popratne pojave antiepileptičkih lijekova koje rabimo za liječenje epilepsije u djece

Načela farmakoterapije epilepsija u djece iziskuju poznavanje mogućih neželjenih popratnih pojava AEL-a, pogotovo u kombinaciji više lijekova s višim dozama. Kada govorimo o učestalosti neželjenih popratnih pojava, obično ih izražavamo kao vrlo česte ≥ 1/10, česte ≥ 1/100 do < 1/10, manje česte ≥ 1/1000 do < 1/100, rijetke ≥ 1/10.000 do < 1/1000 i nepoznate učestalosti (ne može se procijeniti iz dostupnih podataka). Treba reći da je većina neželjenih popratnih pojava na AEL-e rijetka do iznimno rijetka i prema svojoj naravi blaga, ali ima neželjenih popratnih pojava koje mogu biti i vrlo teške pa ih je potrebno na vrijeme prepoznati. Svi AEL-i mogu uzrokovati osip i alergijsku reakciju, kao i toksičnost za SŽS. Pojedine neželjene popratne pojave mogu biti učestalije u djece nego što su u odrasloj populaciji.

Ovdje smo naveli česte do manje česte popratne pojave antiepileptičkih lijekova s obzirom na učestalost i znatnost, a od rijetkih popratnih pojava samo one koje su teške. Acetazolamid (ACZ) može uzrokovati crvenilo, letargiju, anoreksiju, parestezije, osip, nefrolitijazu, metaboličku acidozu, a znatne popratne pojave mogu biti, npr., druge idiosinkratične reakcije (aplastična anemija, Stevens-Johnsonov sindrom) i bubrežno zatajenje. U kombinaciji s CBZ-om i OXC-om povisuje rizik od hiponatremije. Treba izbjegavati uporabu s drugim inhibitorima karboanhidraze.[40,41] Brivaracetam (BRV) može uzrokovati pospanost, mučninu, vrtoglavicu, anksioznost, smetnje ponašanja, bronhospazam, a od znatnih popratnih pojava mogu se pojaviti psihotične smetnje.[41,42] Etosuksimid (ETS) može uzrokovati mučninu, povraćanje, sedaciju (obično na serumskoj razini višoj od 100 mg/L). Rijetko se pri uzimanju etosuksimida javljaju glavobolja, ataksija i egzantem. Eslikarbazepin (ESL) može imati popratne pojave kao što su glavobolja, umor, vrtoglavica, tremor, dvoslike, ataksija, astenija, a od znatnijih možemo navesti ove: edemi, mentalni poremećaji, teškoće govora.[43] Everolimus (EVR) može imati popratne pojave poput gastrointestinalnih smetnja, osipa, pruritusa, stomatitisa, glavobolje, anoreksije, nesanice, povišenih vrijednosti triglicerida i sklonosti infekcijama, a kao znatne navodimo ove: pleuralni izljev, amenoreja, hipertenzija, srčana insuficijencija, dijabetes, mijelosupresija, anafilaksija.[44] Felbamat (FBM) ograničen je brojnijim i težim nuspojavama te uskim terapijskim prozorom. Češće su: gubitak apetita, povraćanje, nesanica, vrtoglavica, somnolencija, glavobolja, anoreksija, a znatne su: rizik od hematološke toksičnosti i hepatotoksičnosti, što nalaže monitoring, visoka incidencija aplastične anemije i zatajenje jetre.[45] Fenitoin (PHT) ima češće nuspojave: dvoslike, vrtoglavicu, nistagmus,

pospanost, sedaciju, ataksiju, hepatalno oštećenje. U kroničnoj primjeni javljaju se gingivalna hiperplazija, akne i hirzutizam. Vrlo se rijetko javljaju osteopenija, cerebelarna atrofija i periferna neuropatija. Fenitoin i fenobarbiton mogu osobito u novorođenčadi izazvati neuronalnu apoptozu.[46] U djece je tijekom dugotrajne primjene fenitoina i fenobarbitona opravdano primjenjivati vitamin D3 i folate. Idiosinkratične reakcije čine: promjene potkožnog tkiva, kožni osip, depresija hemopoeze, limfadenopatija. Znatne nuspojave jesu Stevens-Johnsonov sindrom i hepatotoksičnost. Fenobarbiton (PB) najčešće ima neželjene pojave poput sedacije, pospanosti, ataksije, slinjenja, i to obično pri koncentracijama višim od 30 mg/L. U većine se bolesnika nakon nekog vremena razvije tolerancija na sedativni i hipnotski učinak lijeka. U mlađih bolesnika mogu se javiti i smetnje ponašanja i agitacija, a u djece hiperaktivnost. Najčešća idiosinkratična reakcija pri upotrebi fenobarbitona očituje se u obliku osipa. Znatne su nuspojave: hepatotoksičnost, Stevens-Johnsonov sindrom, apneja pri brzoj primjeni iv. (bolus). Gabapentin (GBP) ima rijetke neželjene pojave kao što su tremor, dvoslike i ataksija, a još se rjeđe javljaju akutna agresija i hiperaktivnost.[47] Karbamazepin (CBZ) može uzrokovati ataksiju, nistagmus, pospanost (kod serumskih razina viših od 10 ng/nL), blažu hepatalnu leziju (pratite transaminaze!), kožni osip, a rijetko leukopeniju. Opisani su i: okulogirne krize, nistagmus, dvoslike, ataksija, koreoatetoza, distonija, potpuna vanjska oftalmoplegija, tikovi, prolazna leukopenija, hiponatremija, debljanje, mučnina, vrtoglavica. Znatne popratne pojave jesu: Stevens-Johnsonov sindrom ili ireverzibilna trombocitopenija (1 : 100.000), agranulocitoza, aplastična anemija i hepatotoksičnost.[48] Zbog sedacije i razvoja tolerancije klobazam (CLB) se rabi uglavnom kao dodatni lijek te pri tvrdokornim epilepsijama. Češće popratne pojave primjene klobazama uključuju: nemir, uzbuđenje, razdražljivost, agresivnost, obmane, noćne more, ali mogu nastupiti i halucinacije i smetnje u ponašanju.[49] Klonazepam (CLZ) može izazvati jaku sedaciju, pojačanu salivaciju, psihomotornu usporenost, rjeđe ataksiju. Lakozamid (LCM) može imati nuspojave kao što su pospanost (inicijalno za vrijeme uvođenja lijeka), glavobolja i mučnina; rjeđe se spominju depresija, nesanica, smetnje ravnoteže, agresija, agitacija i agranulocitoza. Važna popratna pojava pri primjeni lakozamida jest reakcija na lijek uz eozinofiliju i sustavne simptome (engl. *Drug rash with eosinophilia and systemic symptoms* – DRESS). Kontraindikacija za lakozamid jest postojanje atrioventrikularnog (AV) bloka drugog ili trećeg stupnja.[50] Lamotrigin (LTG) relativno često uzrokuje popratne kožne pojave u obliku osipa (3 – 5%). Moguće su glavobolja, diplopija, mučnina, ataksija i tremor, ali sve rjeđe nego u ostalih AEL-a. Oprez (kumulacija!) potreban je kod kombinacije s valproatima.[51,52,53] Znatne popratne pojave lamotrigina jesu Stevens-Johnsonov sindrom, rijetko hepatotoksičnost i DRESS. Levetiracetam (LEV) može imati ove popratne pojave: poremećaj ponašanja, razdražljivost, somnolenciju, umor, vrtoglavicu, anoreksiju, hiperaktivnost, rijetko rabdomiolizu i akutno zatajenje bubrega.[54] Ne uzrokuje neurotoksične učinke poput fenitoina i fenobarbitona. Okskarbazepin (OXC) može uzrokovati pospanost, glavobolju, vrtoglavicu, mučninu, hipertrihozu, gingivalnu hipertrofiju, hiponatremiju, a kožni osip uzrokuje znatno rjeđe od karbamazepina.[55] Perampanel (PER) može kao popratne pojave imati poremećaj pažnje ili ponašanja te umor.[56] Rufinamid (RFM) može uzrokovati povraćanje, somnolenciju, proljev i povišenje temperature.[57] Te se popratne pojave mogu izbjeći sporijim uvođenjem lijeka te nižim terapijskim dozama i koncentracijama. Uz terapiju valproatima preporučuju se niže doze rufinamida od uobičajenih i navedenih na našoj tablici, uz sporije povišenje doze. Rufinamid je kontraindiciran pri obiteljskom kratkom QT-intervalu. Stiripentol (STP) može uzrokovati hiperekscitabilnost, a opisuje se i agresija tijekom primjene lijeka.[58] Sultiam (STM) može imati ove popratne pojave: hiperpneju, dispneju, parestezije, otežanu koordinaciju, somnolenciju, vrlo rijetko psihoze.[18] Tiagabin (TGB) može izazvati popratne pojave kao što su: umor, glavobolja, vrtoglavica, pospanost, tremor, poremećaj koncentracije i kognitivnih funkcija, depresiju, smetnje govora, precipitaciju apsansa i mioklonih napadaja. Važna popratna pojava tiagabina može biti precipitacija nekonvulzivnog epileptičkog statusa.[59] Topiramat (TPM) može izazvati popratne pojave u obliku glavobolja, omaglice, tremora, ataksije, parestezija, povišene temperature, hipohidroze, ali i mentalnu usporenost odnosno kognitivnu disfunkciju. Nuspojave su znatno rjeđe ako se topiramat uvodi vrlo postupno (povišenje doze za 25 mg na tjedan). Pri duljoj primjeni topiramat može dovesti do gubitka tjelesne težine, a u 1% bolesnika do pojave nefrolitijaze.[60] Važna popratna pojava može biti precipitacija glaukoma. Valproati (VPA) mogu izazvati: pretilost, alopeciju, tremor, mučninu, proljev, hiperkolesterolemiju, infiltraciju masti u jetri, hematuriju, menstrualne poremećaje, pojavu policističnih ovarija, porast tjelesne mase zbog stimulacije izlučivanja inzulina, hiperamonemiju, dismenoreju i sekundarnu enurezu. Znatne popratne pojave mogu biti trombocitopenija i oštećenje jetre (1 : 20.000). Valproati mogu uzrokovati sekundarnu hiperamonemiju udruženu s različitim stupnjevima poremećaja svijesti i povraćanjem, hepatotoksičnost i toksičnost pankreasa. Klinička slika Reyeova sindroma, odnosno slika akutne hepatalne encefalopatije može se razviti tijekom primjene valproata u bolesnika s nedostatkom ornitin-transkarbamilaze. Terapija valproatom može uzrokovati i nedostatak karnitina.[61] Vigabatrin (VGB) može imati

popratne pojave kao što su: umor, glavobolja, hiperaktivnost, ataksija, hiperkineza ekstrapiramidnog tipa. U 20% bolesnika tijekom primjene visokih doza vigabatrina u različitom se stupnju izraženosti javljaju retinalna degeneracija uz posljedično suženje vidnog polja te reverzibilne promjene perfuzije bazalnih ganglija, koje regrediraju uz dozu od 50 mg/kg/dan u djece mlađe od 2 godine s Westovim sindromom.[60,61,62] Znatne popratne pojave vigabatrina mogu biti ireverzibilne promjene vidnog polja[62,63,64] i retinopatija. Zonisamid (ZNS) može uzrokovati: somnolenciju, ataksiju, gubitak apetita, gastrointestinalne simptome, bubrežne kamence, hipotermiju, vidne halucinacije, leukopeniju ili porast jetrenih enzima, hipohidrozu, umor, psihomotoričku usporenost i povišenu temperaturu.[65,66] Kontraindiciran je pri preosjetljivosti na sulfonamide. Preporučuje se kontrolirati koncentraciju lijeka ako se zonisamidu pridodaju fenobarbiton, fenitoin ili karbamazepin.

Zaključak

Sve terapijske odluke tijekom liječenja epilepsije u djece podrazumijevaju i određen rizik poput mogućih neželjenih popratnih pojava AEL-a ili komplikacija neurokirurškog liječenja te primjene vagusnog stimulatora. Međutim, i epileptički su napadaji znatan rizik za bolesnika, uključujući psihološke posljedice, socijalnu izolaciju, fizičke ozljede i iznenadnu smrt tijekom epileptičkog napadaja (SUDEP) pa su sniženje ili uklanjanje tih rizika temeljni razlozi liječenja epilepsije u djece.

U principu, farmakoterapijsko liječenje epilepsije simptomatska je terapija. Nema univerzalnog pravila o tome koje je razdoblje bez novih epileptičkih napadaja potrebno da bismo donijeli odluku o prestanku primjene farmakoterapije. U djece je to razdoblje kraće, dvije godine ili više, a u odraslih dulje – i do pet godina. Sljedeći je važan kriterij normalizacija interiktalnog elektroencefalografskog (EEG) nalaza. Vjerojatnost ponavljanja napadaja bitno je veća u žarišnih epilepsija (koje su najčešće i simptomatske) nego u primarno generaliziranih. Također, recidivni napadaji vjerojatniji su u djece kod koje je teže postignuta kontrola napadaja u početnoj fazi liječenja.

Prestanak primjene (ukidanje) antiepileptičkih lijekova provodi se vrlo postupno, tijekom nekoliko mjeseci ili godina pri izostanku epileptičkih napadaja i sukladno nalazima EEG-a (4 – 6 mjeseci, pa i dulje). Ako je bolesnik primao kombinaciju lijekova, prvo se ukida jedan lijek, a onda drugi. Premda se recidiv epileptičkog napadaja može javiti i godinama nakon prekida liječenja, u 90% djece ponovljeni se napadaji javljaju tijekom prve godine poslije prestanka liječenja.

Problematika prikladnoga terapijskog zbrinjavanja djece s epilepsijom povezana je i s jasnom definicijom razina zbrinjavanja. Valja jasno definirati ulogu pedijatrijskih neurologa u pojedinim razinama zbrinjavanja te racionalizirati ne samo terapiju antiepileptičkim lijekovima nego i primjenu dijagnostičkih pretraga. Potrebno je dati odgovarajuće veće značenje zbrinjavanju na prvoj i drugoj razini radi rasterećenja i adekvatnog funkcioniranja treće i četvrte razine, a posebno u praćenju jednostavnih febrilnih napadaja ili benignih epilepsija i dobro kontroliranih idiopatskih generaliziranih epilepsija. Osnovni su preduvjeti definiranje kriterija za upućivanje bolesnika iz prve razine na drugu, odnosno treću i četvrtu razinu te primjena i uporaba normativa i standarda vremena potrebnog za neurološki pregled i pretrage radi produljenja dogovorenog vremena za pregled, pretrage i konzultacije u pedijatrijskoj neurologiji.

Zahvala

Zahvaljujemo ostalim članovima Odbora Hrvatskog društva za dječju neurologiju, kao i članovima Predsjedništva Hrvatske lige protiv epilepsije na suradnji i korisnim savjetima.

LITERATURA

1. *van Dijkman SC, Alvarez-Jimenez R, Danhof M, Della Pasqua O.* Pharmacotherapy in pediatric epilepsy: from trial and error to rational drug and dose selection – a long way to go. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2016;12(10):1143–56.
2. HZZO. Objavljene liste lijekova. Dostupno na: https://www.hzzo.hr/en/zdravstveni-sustav-rh/trazilica-za-lijekove-s-vazecih-lista/. Datum pristupa: 15. 4. 2019.
3. *Atif M, Azeem M, Rehan Sarwar M.* Potential problems and recommendations regarding substitution of generic antiepileptic drugs: a systematic review of literature. Springerplus 2016;5:182.
4. *Kesselheim AS, Stedman MR, Bubrick EJ i sur.* Seizure Outcomes Following Use of Generic vs. Brand-Name Antiepileptic Drugs: A Systematic Review and Meta-Analysis. Drugs 2010;70(5):605–21.
5. *Prpić I, Kolić I, Jotanović Ž.* Primjena antiepileptičkih lijekova u dječjoj dobi – generici ili originalni lijekovi. Peadiatr Croat 2017;61(Supl. 1):246–50.
6. *Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A i sur.* A practical clinical definition of epilepsy. Epilepsia 2014;55(4):475–82.
7. *Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G i sur.* ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. Epilepsia 2017;58(4):512–21.
8. *Glauser T, Ben-Menachem E, Bourgeois B i sur.; ILAE Subcommission of AED Guidelines.* Updated ILAE evidence review of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. Epilepsia 2013; 54(3):551–63.
9. *Donner EJ.* Sudden unexpected death in epilepsy: Who are the children at risk? Paediatr Child Health 2014;19(7):389.
10. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. Epilepsia 1981;22(4):489–501.

11. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Epilepsia 1989;30(4):389–99.
12. *Engel J Jr.; International League Against Epilepsy (ILAE).* A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. Epilepsia 2001;42(6):796–803.
13. *Engel J Jr.* Report of the ILAE Classification Core Group. Epilepsia 2006;47(9):1558–68.
14. *Fisher RS, Cross JH, French JA i sur.* Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. Epilepsia 2017;58(4):522–30.
15. *Fisher RS, Cross JH, D'Souza C i sur.* Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. Epilepsia 2017;58(4):531–42.
16. *Lee SK.* Old versus New: Why Do We Need New Antiepileptic Drugs? J Epilepsy Res 2014;4(2):39–44.
17. *French JA, Gazzola DM.* New generation antiepileptic drugs: what do they offer in terms of improved tolerability and safety? Ther Adv Drug Saf 2011;2(4):141–58.
18. *Barišić N i sur.* Pedijatrijska neurologija. 1. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2009.
19. *Gupta R, Appleton R.* Corticosteroids in the management of the paediatric epilepsies. Arch Dis Child 2005;90:379–84.
20. *Cai QY, Zhou ZJ, Luo R, Gan J, Li SP, Mu DZ, Wan CM.* Safety and tolerability of the ketogenic diet used for the treatment of refractory childhood epilepsy: a systematic review of published prospective studies. World J Pediatr 2017;13(6): 528–36.
21. *Prpić I, Radić Ništević J, Obrovac Glišić M, Kolić I, Begić J, Margetić J.* Modified Atkins diet (MAD) in children with refractory epilepsy – Our experience. Eur J Ped Neurol 2017: 21(Supl. 1):e33.
22. *Paučić-Krinčić E, Prpić I, Sasso A, Gazdik M, Modrušan-Mozetič Z, Vlahović-Palčevski V.* Antiepileptički lijekovi u liječenju epilepsija i epileptičkih sindroma razvojne dobi. Paediatr Croat 2002;46(Supl. 1):187–92.
23. *Dürrigl V.* Epilepsy – a review of its development in the world and in Croatia. Acta Med Croat 2005;59(1):41–50.
24. *Nidanapu RP, Tamijarassy B, Mahadevan S, Gitanjali B.* Comparative Effect of Divided Doses of Adult Solid and Liquid Oral Formulations of Antiepileptic Drugs in the Management of Pediatric Epilepsy. J Pharmacol Pharmacother 2017; 8(2):54–61.
25. *Atkins D, Best D, Briss PA i sur.; GRADE Working Group.* Grading quality of evidence and strength of recommendations. BMJ 2004;328(7454):1490.
26. *Edlund W, Gronseth G, So Y (ur.).* Clinical practice guideline process manual. St Paul, MN: American Academy of Neurology; 2004.
27. *Gronseth G, French J.* Practice parameters and technology assessments: what they are, what they are not, and why you should care. Neurology 2008;71(20):1639–43.
28. *Tomson T, Marson A, Boon P i sur.* Valproate in the treatment of epilepsy in girls and women of childbearing potential. Epilepsia 2015;56(7):1006–19.
29. *European Medicines Agency.* Assessment report. Procedure under Article 31 of Directive 2001/83/EC resulting from pharmacovigilance data. 2014. Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Valproate_and_related_substances_31/Recommendation_provided_by_Pharmacovigilance_Risk_Assessment_Committee/WC500177352.pdf. Datum pristupa: 11. 4. 2019.
30. *National Institute for Health and Care Excellence (NICE).* The Epilepsies: The Diagnosis and Management of the Epilepsies in Adults and Children in Primary and Secondary Care: Pharmacological Update of Clinical Guideline 20. National Clinical Guideline Centre (UK). London: Royal College of Physicians (UK); 2012.
31. *Kanner AM, Ashman E, Gloss D i sur.* Practice guideline update summary: Efficacy and tolerability of the new antiepileptic drugs I: Treatment of new-onset epilepsy. Report of the American Epilepsy Society and the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. Epilepsy Curr 2018;18(4): 260–8.
32. *Miškov S, Gjergja Juraški R, Mikula I i sur.* The Croatian model of integrative prospective management of epilepsy and pregnancy. Acta Clin Croat 2016;55(4):535–48.
33. *Barišić N, Prpić I, Sabol Z i sur.* Epileptički napadaji – dijagnostički i terapijski postupci i razine zbrinjavanja u pedijatriji. Paediatr Croat 2016;60(Suppl. 3):52–66.
34. *Barišić N.* Epilepsije i epileptički napadaji. U Mardešić D, Barić I (ur.). Pedijatrija. 8. izd. Zagreb: Školska knjiga; 2016., str. 989–98.
35. *Kim RB.* Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers. Drug Metab Rev 2002;34(1–2):47–54.
36. *Reimers A.* New antiepileptic drugs and women. Seizure 2014;23(8):585–91.
37. *Sauro KM, Wiebe S, Perucca E i sur.* Developing clinical practice guidelines for epilepsy: A report from the ILAE Epilepsy Guidelines Working Group. Epilepsia 2015;56(12):1859–69.
38. *Panayiotopoulos CP.* A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and their Treatment. 2. izd. London; Springer Science & Business Media, 2010.
39. FDA. Drugs. Dostupno na: https://www.fda.gov/Drugs/. Datum pristupa: 13. 4. 2019.
40. *Patsalos PN.* Antiepileptic Drug Interactions: A Clinical Guide. Springer International Publishing AG; 2016.
41. *Perucca E.* Clinically relevant drug interactions with antiepileptic drugs. Br J Clin Pharmacol 2006;61(3):246–55.
42. *Mumoli L, Palleria C, Gasparini S i sur.* Brivaracetam: review of its pharmacology and potential use as adjunctive therapy in patients with partial onset seizures. Drug Des Devel Ther 2015;9:5719–25.
43. *Villanueva V, Serratosa JM, Guillamón E i sur.* Long-term safety and efficacy of eslicarbazepine acetate in patients with focal seizures: results of the 1-year ESLIBASE retrospective study. Epilepsy Res 2014;108(7):1243–52.
44. *Samueli S, Abraham K, Dressler A i sur.* Efficacy and safety of Everolimus in children with TSC - associated epilepsy – Pilot data from an open single-center prospective study. Orphanet J Rare Dis 2016;11:145.
45. *The Felbamate Study Group in Lennox-Gastaut Syndrome.* Efficacy of felbamate in childhood epileptic encephalopathy (Lennox-Gastaut syndrome). N Engl J Med 1993;328:29–33.
46. *Saito Y, Oguni H, Awaya Y, Hayashi K, Osawa M.* Phenytoin-induced choreoathetosis in patients with severe myoclonic epilepsy in infancy. Neuropediatrics 2001;32(5):231–5.
47. *Appleton RE, Fichtner K, LaMoreaux L i sur.* Gabapentin as add-on therapy in children with refractory partial seizures: a 24-week, multicentre, open-label study. Dev Med Child Neurol 2001;43:269–73.

48. *Ng YT, Conry J, Mitchell WG i sur.* Clobazam is equally safe and efficacious for seizures associated with Lennox-Gastaut syndrome across different age groups: Post hoc analyses of short- and long-term clinical trial results. Epilepsy Behav 2015;46:221–6.
49. *Jung DE, Yu R, Yoon JR i sur.* Neuropsychological effects of levetiracetam and carbamazepine in children with focal epilepsy. Neurology 2015;84(23):2312–9.
50. *Ortiz de la Rosa JS, Ladino LD, Rodríguez PJ, Rueda MC, Polanía JP, Castañeda AC.* Efficacy of lacosamide in children and adolescents with drug-resistant epilepsy and refractory status epilepticus: A systematic review. Seizure 2018;56:34–40.
51. *Prpić I, Boban M, Vlašić-Cicvarić I, Korotaj Z.* Effect of lamotrigine on cognition in children with epilepsy. Neurology 2007;68(10):797–8.
52. *Coppola G, Auricchio G, Federico R, Carotenuto M, Pascotto A.* Lamotrigine versus valproic acid as first-line monotherapy in newly diagnosed typical absence seizures: an open-label, randomized, parallel-group study. Epilepsia 2004;45(9):1049–53.
53. *Guerrini R, Dravet C, Genton P, Belmonte A, Kaminska A, Dulac O.* Lamotrigine and seizure aggravation in severe myoclonic epilepsy. Epilepsia 1998;39(5):508–12.
54. *Tekgül H, Gencpinar P, Çavuşoğlu D, Dündar NO.* The efficacy, tolerability and safety of levetiracetam therapy in a pediatric population. Seizure 2016;36:16–21.
55. *Gelisse P, Genton P, Kuate C i sur.* Worsening of seizures by oxcarbazepine in juvenile idiopathic epilepsies. Epilepsia 2004;45:1282–6.
56. *Biró A, Stephani U, Tarallo T i sur.* Effectiveness and tolerability of perampanel in children and adolescents with refractory epilepsies: first experiences. Neuropediatrics 2015;46(2):110–6.
57. *Kothare S, Kluger G, Sachdeo R i sur.* Dosing considerations for rufinamide in patients with Lennox-Gastaut syndrome: Phase III trial results and real-world clinical data. Seizure 2017;47:25–33.
58. *Chiron C, Marchand MC, Tran A i sur.* Stiripentol in severe myoclonic epilepsy in infancy: a randomised placebo-controlled syndrome-dedicated trial. STICLO study group. Lancet 2000;356(9242):1638–42.
59. *Skardoutsou A, Voudris KA, Vagiakou EA.* Non-convulsive status epilepticus associated with tiagabine therapy in children. Seizure 2003;12:599–601.
60. *Mohamed K, Appleton RE, Rosenbloom L.* Efficacy and tolerability of topiramate in childhood and adolescent epilepsy: a clinical experience. Seizure 2000;9:137–41.
61. *Bielen I, Cvitanović-Šojat L, Matek P, Planjar-Prvan M.* Increase of classical antiepileptic drug utilization in Croatia during the process of introducing the new generation of drugs. Coll Antropol 2003;27(2):617–21.
62. *Cvitanović-Šojat L, Gjergja R, Sabol Z, Hajnzić TF, Šojat T.* Treatment of West syndrome. Acta Med Croat 2005;59(1):19–29.
63. *Schonstedt V, Stecher X, Venegas V, Silva C.* Vigabatrin-induced MRI changes associated with extrapyramidal symptoms in a child with infantile spasms. Neuroradiol J 2015;28(5):515–8.
64. *Wilmshurst JM, Gaillard WD, Vinayan KP i sur.* Summary of recommendations for the management of infantile seizures: Task Force Report for the ILAE Commission of Pediatrics. Epilepsia 2015;56(8):1185–97.
65. *Baulac M.* Introduction to zonisamide. Epilepsy Res 2006;68(Supl. 2):S3–9.
66. *Zareba G.* Zonisamide: review of its use in epilepsy therapy. Drugs Today (Barc) 2005;41(9):589–97.
67. *Curatolo P, Nabbout R, Lagae L i sur.* Management of epilepsy associated with tuberous sclerosis complex: Updated clinical recommendations. Eur J Paediatr Neurol 2018;22(5):738–48.

Liječ Vjesn 2019;141:196–204
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-24

Pregled | Review

Funkcionalne vrtoglavice u svjetlu novoutemeljenog entiteta – perzistentne posturalno-percepcijske vrtoglavice

Functional dizziness in the light of the newly-established entity – Persistent postural-perceptual dizziness

Siniša Maslovara[1], Dražen Begić[2], Silva Butković-Soldo[3], Petar Drviš[4], Ivana Pajić Matić[5], Anamarija Šestak[6]

[1] Hrvatsko društvo za vestibularnu rehabilitaciju HLZ-a, ORL poliklinika Opće županijske bolnice i bolnice hrvatskih veterana Vukovar, Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku
[2] Klinika za psihijatriju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb
[3] Hrvatsko neurološko društvo Hrvatskoga liječničkog zbora, Klinika za neurologiju KBC-a Osijek, Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku
[4] Hrvatsko društvo za vestibularnu rehabilitaciju Hrvatskoga liječničkog zbora, Klinika za ORL, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Klinički bolnički centar Split
[5] Hrvatsko društvo za vestibularnu rehabilitaciju Hrvatskoga liječničkog zbora, ORL odjel Opće bolnice „Dr. Josip Benčević", Slavonski Brod, Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku
[6] Hrvatsko društvo za vestibularnu rehabilitaciju Hrvatskoga liječničkog zbora, ORL poliklinika Opće županijske bolnice i bolnice hrvatskih veterana Vukovar

Deskriptori
PERZISTENTNO POSTURALNO-PERCEPCIJSKE VRTOGLAVICE – dijagnoza, liječenje, patofiziologija, psihologija; VESTIBULARNI POREMEĆAJI – komplikacije, patofiziologija; ANKSIOZNI POREMEĆAJI – komplikacije, patofiziologija; OMAGLICA – komplikacije, patofiziologija, psihologija; STRAH – psihologija; DRŽANJE TIJELA

SAŽETAK. Funkcionalne vrtoglavice ističu se svojom učestalošću i drugi su najčešći uzrok vrtoglavica u općoj populaciji, dok su u dobnoj skupini od 30 do 50 godina i najčešći. Klasični dijagnostički proces usmjeren je na pronalaženje medicinske ili kirurške dijagnoze, a ako se ona ne pronađe, obično kažemo da je uzrok bolesti „psihogen". Posljednjih desetljeća, napuštanjem uvriježenoga dihotomnoga dijagnostičkog pristupa i primjenom novog, integrativnog načina dijagnostičkog razmišljanja došlo se do spoznaje o postojanju funkcionalnih vestibularnih poremećaja. Oni su uvijek posljedica loše readaptacije posturalnog sustava na neku vestibularnu, neurološku, strukturnu ili psihijatrijsku bolest. Uzrok tomu leži u uskoj povezanosti živčanih projekcija u mozgu odgovornih za kontrolu pokreta i položaja tijela u prostoru s onima odgovornima za opasnost i strah. Odbor za klasifikaciju vestibularnih poremećaja Bárányjeva društva nedavno je utemeljio dijagnostičke kriterije za perzistentnu posturalno-percepcijsku vrtoglavicu (PPPD). Riječ je o najčešćem funkcionalnom vestibularnom poremećaju, koji obuhvaća prije uspostavljene entitete: fobičnu posturalnu vrtoglavicu, vizualnu i kroničnu subjektivnu vrtoglavicu. Dominantni simptomi PPPD-a jesu: vrtoglavica koja kontinuirano traje najmanje 3 mjeseca i uvijek je povezana s držanjem tijela, a nije kružnog tipa. Javljaju se preosjetljivost na pokretne podražaje, uključujući i vlastite pokrete, ali i kretanje velikih vizualnih objekata ili kompleksnih vizualnih podražaja u širokome vidnom polju, kao i teškoće pri izvođenju preciznih vizualnih radnja. Kod blažih i umjerenih smetnja poželjno je provesti vestibularnu rehabilitaciju, jer većina pacijenata ima provokativne čimbenike vezane uz vid i kretanje. Indicirano je i farmakoterapijsko liječenje selektivnim inhibitorima ponovne pohrane serotonina i noradrenalina. Dobri rezultati postižu se i primjenom kognitivno-biheviorale psihoterapije, mijenjanjem negativnih automatskih misli, refokusiranjem pažnje, reatribucijom, sustavnim i postupnim izlaganjem ili, pak, izlaganjem odjedanput i dr. Prognoza bolesti znatno je bolja kod pacijenata bez komorbiditeta u odnosu prema onima s njime.

Descriptors
BENIGN PAROXYSMAL POSITIONAL VERTIGO – diagnosis, physiopathology, psychology, therapy; VESTIBULAR DISEASES – complications, physiopathology; ANXIETY DISORDERS – complications, physiopathology; DIZZINESS – complications, psychology, physiopathology; FEAR – psychology, POSTURE

SUMMARY. Functional dizziness is noted for its frequency and is the second most common cause of dizziness in the general population, most prevalent in the age group of 30–50 years. The classic diagnostic process is aimed at finding a medical or surgical diagnosis, and in case it is not found, it is said to be caused by a "psychogenic" disease. In recent decades, using a new, integrative way of thinking, there has been a discovery of functional vestibular disorders. They have always been overcome by acute or back vestibular disease due to poor readout of the postural system. The reason for this lies in a close connection to the brain of nerve projections responsible for controlling motion and position of the body in space with those responsible for danger and fear. The Nomenclature and Classification Committee of Barany's Vestibular Disorders recently established diagnostic criteria for persistent postural-perceptive dizziness (PPPD). This is the most common functional vestibular disorder, which includes the previously established: persistent postural dizziness, visual and chronic subjective dizziness. The dominant symptom of PPPD is non-rotatory dizziness that lasts for at least three months continuously and is always associated with the condition of the body. The hypersensitivity to moving stimuli occurs, including the movements of large visual objects or complex visual stimuli in a wide field of vision and the difficulty of performing precision visual actions. For mild and moderate interferences it is advisable to conduct vestibular rehabilitation, as most patients have provocative factors related to vision and movement. Individually tailored exercises are used to reduce susceptibility to provocative movements, and conditioning exercises are very useful for repairing disturbed body posture. Pharmacotherapeutic treatment with selective serotonin or serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors is also indicated. Good results are achieved by the use of cognitive-behavioural psychotherapy, changing of negative automatic thoughts, refocusing attention, re-allocation, systematic and gradual exposure or exposure at once, biofeedback etc. The prognosis of the disease is better in patients without comorbidity, while in those with comorbidity it is significantly worse.

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Doc. dr. sc. S. Maslovara,
https://orcid.org/0000-0001-6480-8146
Opća županijska bolnica i bolnica hrvatskih veterana Vukovar, Županijska 35, 32000 Vukovar;
e-mail: sinisamaslovara@yahoo.com

Primljeno 28. veljače 2019.,
prihvaćeno 2. travnja 2019.

Učestalost vrtoglavica u općoj populaciji vrlo je velika. Životna prevalencija vrtoglavica u općoj populaciji Republike Njemačke na razini je 20 – 30%,[1] dok je godišnja prevalencija 22,9%, a incidencija (pojava prve epizode bolesti) 3,1%.[2] Među sveukupnim uzrocima vrtoglavica funkcionalni vestibularni poremećaji (FVP) ističu se svojom zastupljenošću i drugi su najčešći uzrok vrtoglavica u odrasloj populaciji, odmah iza BPPV-a, a u pojedinim dobnim skupinama, kao što su adolescentska dob i ona od 30 do 50 godina, čak i najčešći.[3] Usto, oni su najčešći oblik kroničnih vrtoglavica, za kojima slijede bilateralne vestibulopatije, ali s mnogo manjim udjelom od oko 5%.[4] Prevalencija FVP-a kao primarnog uzroka vrtoglavica iznosi oko 10% u neurootološkim centrima. Stope psihijatrijskog komorbiditeta u bolesnika sa strukturnim vestibularnim poremećajima mnogo su više, gotovo 50%-tne, najviše u bolesnika s *vestibularnom migrenom*, *vestibularnom paroksizmijom* i *Ménièreovom bolešću*.[5,6] Može se reći da postoje tri podjednako zastupljena obrasca koji povezuju psihičke smetnje i poremećaje ravnoteže: vrtoglavica može biti posljedica primarne anksioznosti, ali isto tako vestibularni poremećaji mogu biti „okidač" različitih psihičkih poremećaja ili, pak, pogoršati otprije postojeće psihičke poremećaje.[7]

Etiologija

Kako bismo se sigurno kretali prostorom, potrebni su stalni nadzor naših pokreta i dobra orijentacija u prostoru, kao i procjena opasnosti. Kod životinja i ljudi ovo se ostvaruje uskom povezanošću živčanih projekcija u mozgu odgovornih za opasnost i strah s onima odgovornima za kontrolu pokreta i položaja tijela u prostoru.[8] Posljednjih godina utvrđene su brojne veze između vizualnih, somatosenzornih i vestibularnih centara s onima namijenjenima reakcijama na strah, opasnost i emocije. Tako su studije na životinjama pokazale povratne veze vestibularnih i parabrahijalnih jezgara, kao i parabrahijalnih i središnjih amigdalnih jezgara.[9] Slično tomu, utvrđene su povratne veze kojima se uglavnom šalju vizualne i somatosenzorne informacije između amigdalnih jezgara i gornjih kolikula te talamusa.[10] Ove su veze potvrđene skorašnjim funkcionalnim MR pretragama na zdravim ljudima.[11,12] Holle i suradnici svojom su nedavno objavljenom studijom pokazali nedvojbenu povezanost osjeta boli i funkcionalnih poremećaja ravnoteže. Tako su poduprli hipotezu o multisenzornoj dimenziji PPPD-a kao rezultatu mnogo šireg poremećaja adaptacije, koji se proteže izvan vestibularno-vizualnih pokretnih podražaja i refleksno-okulomotornih posturalnih kontrolnih mehanizama.[13] Skorašnja studija, zasnovana na vokselnoj morfometrijskoj magnetskoj rezonanciji (MR), pokazala je odstupanje sive tvari kod pacijenata s PPPD-om u specifičnim dijelovima mozga uključenima u multisenzorni sustav za održavanje ravnoteže.[14]

Patofiziološki mehanizam

Patofiziološki mehanizam nastanka FVP-a nepoznat je. Hipotetski, nakon izlaganja precipitirajućim čimbenicima koji su „okidač" nastanka funkcionalnih vrtoglavica (akutni ili povratni poremećaji ravnoteže, nastali kao posljedica vestibularnog, neurološkog ili psihijatrijskog poremećaja), čak i kad se dobro kompenziraju, u manjeg broja bolesnika umjesto readaptacije narušenog sustava za ravnotežu, dolazi do pojave maladaptacije, tj. promjena u posturalnoj strategiji. Povećava se obraćanje pozornosti na položaj glave i pokrete tijela te kontrakcije nožnih mišića. Formiraju se novi posturalni obrasci. Simptomi se u početku bolesti obično jave povremeno, a zatim konsolidiraju i postaju stalni, dok je postupno nastajanje bolesti vrlo rijetko. Nekad bi se nastavak simptoma nakon akutne ili epizodne vestibularne bolesti opisivao kao „kronična vestibulopatija" ili „psihogena vrtoglavica", što danas, uz dobro definirane kriterije za dijagnozu FVP-a, možemo smatrati zastarjelim. Sekundarni učinci ovih promjena jesu: stalni strah od visine, ukočenost vrata i agorafobija. Neki autori postavljaju zanimljivu i intrigantnu hipotezu da do PPPD-a, slično kao i kod ostalih funkcionalnih neuroloških poremećaja, dolazi iskrivljenjem odlaznih signala koje mozak, kao neka vrsta pokvarenog Bayesova procjenitelja, odašilje prema dolje, koristeći se samo prije stečenim iskustvima, ali ne i podacima o trenutačnom stanju ravnoteže.[15–17] Pokazalo se da su osobine ličnosti s visokom razinom neurotičnosti i pretjeranom brigom za tjelesne simptome te niskom razinom ekstrovertiranosti predisponirajući, rizični čimbenici za nastanak FVP-a.

Dijagnostička klasifikacija funkcionalnih i psihijatrijskih vestibularnih poremećaja

Napredak bazične neurologije i fiziologije nije znatnije utjecao na svakodnevnu kliničku praksu, jer su liječnici kliničari desetljećima obrazovani i vježbani za dihotoman dijagnostički način razmišljanja, pa i u slučaju bihevioralnih bolesti.[8] Uobičajeno, cjelokupni dijagnostički proces bio je usmjeren na pronalaženje medicinske ili kirurške dijagnoze. Ako se ona ne pronađe, kaže se da je uzrok bolesti „psihohogen" ili, još gore, odbaci kao „neobjektivan" ili „nestvaran". To često dovodi do nepotpunih zaključaka, nedostajanja dijagnoze funkcionalnog ili psihijatrijskog poremećaja, ili njegova pogrešnog označavanja negacijom strukturnoga. Takav obrazac dijagnostičkog razmišljanja u svojoj je osnovi potpuno nelogičan i „promašen". Može biti dobar jedino u situaciji kad se jedan entitet potpuno razlikuje od drugoga i kad su svi njihovi ele-

menti dobro poznati, a granice im čvrste te se ni najmanje ne preklapaju. U otoneurološkoj dijagnostici ovakav obrazac razmišljanja redovito ne zadovoljava potrebe, jer se strukturna, funkcionalna i psihijatrijska stanja uvelike preklapaju, granice su entiteta nejasne, a sve mogućnosti nisu poznate. Zbog toga se, nasuprot spomenutomu ***dihotomnom*** dijagnostičkom pristupu, posljednjih desetljeća razvio ***integrativni*** način dijagnostičkog promišljanja, koji uzima u obzir mogućnost preklapanja granica pojedinih entiteta, kao i manjkavo znanje o svim njihovim svojstvima. Držeći se integrativnog pristupa vestibularnim poremećajima, FVP-i nisu klasificirani zasebno, odvojeno od strukturnih poremećaja, nego zajedno s njima u sklopu akutnog, epizodnog i kroničnoga vestibularnog sindroma.

Dijagnoza

Iznimno je važno dovoljno rano i točno postavljanje dijagnoze FVP-a da bi se na vrijeme započelo s liječenjem te tako umanjila mogućnost kronificiranja akutnog ili povratnoga vestibularnog, neurološkog ili psihijatrijskog poremećaja. Međutim, neke okolnosti znatno otežavaju postavljanje dijagnoze FVP-a. Pacijenti su u početku bolesti potpuno nesvjesni njezine psihološke podloge, a redovito se liječniku javljaju zbog smetnja u obliku: nestabilnosti, nesigurnosti, skretanja u stranu, osjećaja prevrtanja, tonjenja i sl. pri hodu i/ili stajanju, koje su katkad praćene i vegetativnim znakovima. Psihičke smetnje koje pritom imaju i zapažaju bolesnici redovito pripisuju poremećaju ravnoteže. Također, vrlo rijetko spontano izvješćuju o stresnoj ili konfliktnoj situaciji u kojoj su se nedavno našli i koja je mogla biti „okidač" vrtoglavice. Uvriježeni dihotomni način dijagnostičkog razmišljanja kliničara dodatna je i još veća teškoća pri dolasku do točne i brze dijagnoze. Dijagnostika FVP-a potpuno se oslanja na povijest bolesti, jer se zasad zasniva samo na simptomima bolesti. Laboratorijska dijagnostika ipak je potrebna kako bi se utvrdio eventualni komorbiditet nekoga drugog vestibularnog poremećaja, čiji se simptomi mogu znatno prožimati i preklapati sa simptomima FVP-a. Ovdje nam uvelike mogu pomoći neki od upitnika koji se odnose na anksioznost i depresivnost, kao što su: HADS (engl. *Hospital Anxiety and Depression Scale*),[18,19] GAD-7 (*Generalized Anxiety Disorders Scale*), PHQ-9 (*Patient Health Questionnaire-9*), PHQ-4 (*Patient Health Questionnaire-4*)[20] i dr. Pacijent ih popunjava prije samog pregleda, a mogu poslužiti kao dobra orijentacija o njegovu trenutačnom psihičkom stanju.

Anksiozni poremećaji

Javljaju se kao primarna dijagnoza u 8 – 10% pacijenata s vestibularnim smetnjama.[8] Oni su **daleko najčešći psihijatrijski uzrok vestibularnih simptoma**, a manifestiraju se kao ***napadaji panike, opća anksioznost ili fobično ponašanje***.

Napadaji panike akutne su epizode tjelesnih i psihičkih simptoma, koji mogu nastupiti spontano ili biti izazvani nekim „okidačem". To su iznenadni napadaji koji postižu vrhunac nakon 10 – 15 minuta i onda postupno slabe, međutim, njihovi dugotrajni učinci mogu potrajati i satima.[21,22] Uz kardiopulmonalne simptome (palpitacije, bol u prsima, dispneja) praćeni su i vestibularnim simptomima kao što su: vrtoglavica nerotatornog tipa, omaglica i nestabilnost.[23] Među tjelesnim simptomima mogu se javiti i vegetativni (hladan znoj, mučnina), koji su u ovom slučaju puno manje izraženi nego kod strukturnih vestibularnih poremećaja, a i drugi psihijatrijski simptomi kao što su: jaka tjeskoba, strah od umiranja i gubljenja kontrole te depersonalizacija i derealizacija.

Izolirani napadaj panike može zahvatiti do 10% opće populacije i ne smatra se psihijatrijskom bolešću u užem smislu riječi.[21] Ipak, treba ga imati u vidu kao mogući uzrok akutnoga vestibularnog poremećaja, koji je istodobno i predznak njegova prilično lošeg i sporog oporavka.[5,24,25]

Povratni napadaji panike praćeni vestibularnim smetnjama mogu biti izazvani i primarnim paničnim poremećajem, socijalnom fobijom i posttraumatskim stresnim poremećajem (PTSP). Isto tako, vestibularni poremećaji mogu biti „okidač" sekundarnoga paničnog poremećaja, socijalne fobije (straha od pojavljivanja u javnosti zbog hendikepiranosti vrtoglavicom) ili PTSP-a (ako se vestibularna kriza javi istodobno s opasnošću za tijelo i život). Vestibularni poremećaj može egzacerbirati već postojeći opsesivno-kompulzivni poremećaj (OKP), ali ne biti i „okidač" njegova inicijalnog pojavljivanja.

Opća anksioznost najčešće je uzrok kronične dezorijentiranosti, omaglice, nesigurnosti i nestabilnosti pri stajanju i hodu. Ključna za dijagnosticiranje ovog poremećaja jest pretjerana briga za životne okolnosti.[21,22] Kronična briga i psihosomatski simptomi anksioznosti mogu biti prouzrokovani općom anksioznošću, agorafobijom, socijalnom fobijom, PTSP-om te OKP-om. Akutni i kronični vestibularni poremećaj mogu biti skloni egzacerbaciji ili biti „okidač" tim poremećajima, koji, s druge strane, povećavaju vjerojatnost da će kratkotrajni vestibularni simptomi postati kronični.[5]

Fobični poremećaji mogu znatno utjecati na vestibularni sustav, a među njima najveće značenje imaju dvije fobije: **strah od padanja i strah od visine** (*acrophobia*). Ove se fobije mogu pojaviti kao primarne ili sekundarne, kao posljedica stvarnih ili bliskih padova ili anksioznosti izazvane visinom. Strah od padanja osobito se javlja kod starijih osoba i zapravo povećava

vjerojatnost od njihova pada zbog ukočena načina hoda, čime se smanjuje mogućnost izbjegavanja zapreka na putu i reakcije na neočekivane situacije.[26,27] Gubitak pouzdanja i sigurnosti u vlastiti hod, katkad dovodi do nepotrebne upotrebe pomagala za hod, hodalica, pa i invalidskih kolica, što uzrokuje slabljenje mišića i povećava cjelokupnu onesposobljenost.[28] Mnoge osobe koje pate zbog straha od visine, izbjegavajući situacije izloženosti visini, ograničavaju svoje aktivnosti i tako umanjuju kvalitetu svojeg života.[29] Pojam ***agoraphobia*** (grč. *agora* – trg; *phobia* – strah), koji možemo jasno povezati sa psihogenim vrtoglavicama, u medicinu je uveo njemački psihijatar i neurolog Carl Westphal 1871. godine. Povezujući psihičke smetnje i vrtoglavicu, opisao ga je kao stanje ošamućenosti, poremećaja prostorne orijentiranosti i anksioznosti kod osoba koje su kupovale među mnoštvom na tadašnjim trgovima.[30] Prema MKB-10, agorafobija (F40.0) anksiozni je poremećaj koji se javlja samostalno ili u okviru paničnog poremećaja. Agorafobija jest strah od mjesta s kojeg bi bio otežan bijeg ili nemoguć pristup pomoći bude li to potrebno. Pritom se javlja misao da se neće moći brzo otići na neko sigurno mjesto. Izbjegavaju se situacije samostalnog boravka izvan kuće, osobito u gužvi, na široko otvorenome ili, pak, zatvorenom prostoru, vožnja automobilom i, još više, sredstvima javnog prijevoza. Agorafobiju obilježavaju i tjelesni simptomi: ubrzani rad srca, bol u prsima, znojenje, drhtanje, osjećaj gušenja ili nedostatka zraka, mučnina, različite parestezije i vrtoglavica.

Primarni i sekundarni anksiozni poremećaji mogu unijeti zabunu u rezultate laboratorijske dijagnostike. Naime, pokazalo se da bolesnici s ovim poremećajima znatno češće od zdravih osoba mogu imati bar neki od rezultata laboratorijskih proba izvan fizioloških granica (kalorijske, položajne i položavajuće probe te probe finog praćenja). Pa ipak, ne postoji nijedan patognomoničan nalaz laboratorijskog ispitivanja koji bi govorio u prilog ovih ili bilo kojih drugih funkcionalnih vestibularnih poremećaja, tako da se često posve minorni nalazi abnormalnosti u testovima pripisuju strukturnim vestibularnim poremećajima, bez jasne poveznice iz povijesti bolesti. Anksiozni poremećaji ponajviše utječu na rezultate složenih integrativnih senzornih testova, kao što je proba senzorne organizacije (engl. *Sensory Organisation Test* – SOT) u sklopu kompjutorizirane dinamičke posturografije (engl. *Computerized Dynamic Posturography* – CDP). Utvrđen je „nefiziološki" obrazac reakcije na podražaje kod anksiozne skupine pacijenata.[31] Longridge i Mallinson postavili su 2005. godine nove kriterije SOT-a koje su nominirali za razotkrivanje simuliranja, ali pritom nisu uzeli u obzir funkcionalne vestibularne poremećaje.[32] Skorašnja istraživanja uporabom najnovijih dijagnostičkih kriterija, koji su uzeli u obzir i funkcionalne poremećaje, potvrdila su da se oni mogu znatno odraziti na pojavu „nefiziološkog" obrasca pri SOT-u.[33]

Depresivni poremećaji

Nisu tako čest uzrok vestibularnih simptoma kao anksiozni poremećaji. Ipak, prevalencija ovih poremećaja kod pacijenata je s vestibularnim smetnjama mnogo veća nego u općoj populaciji. Velika studija na mlađim osobama pa sve do onih srednje životne dobi pokazala je da je vrtoglavica dobar prediktor depresivnosti u roku od godine dana.[34]

Perzistentna posturalno-percepcijska vrtoglavica

Pododbor za bihevioralne poremećaje Odbora za klasifikaciju vestibularnih poremećaja Bárányjeva društva (engl. *Committee for the Classification of Vestibular Disorders of the Bárány Society* – CCBS) 2015. je godine konsenzusom uspostavio perzistentnu posturalno-percepcijsku vrtoglavicu (engl. *Persistent Postural-Perceptual Dizziness* – PPPD) kao naziv za najčešći funkcionalni vestibularni poremećaj, uključivši u njega sve značajke prije opisanih vestibularnih funkcionalnih poremećaja: fobičnu posturalnu vrtoglavicu (engl. *Phobic Postural Vertigo* – PPV), nelagodu kretanja prostorom (engl. *Space and Motion Discomfort* – SMD), vizualno izazvane vrtoglavice (engl. *Visual Vertigo* – VV) i sindrom kronične subjektivne vrtoglavice (engl. *Chronic Subjective Dizziness* – CSD).

Fobična posturalna vrtoglavica

Proteklo je nešto više od jednog stoljeća i prvog opisa pojma ***agoraphobia***,[30] koji u sebi povezuje psihičke smetnje i vrtoglavicu, do trenutka kad su Thomas Brandt i Marianne Dieterich 1986. godine opisali fobičnu posturalnu vrtoglavicu (njem. *Phobischer Attacken-Schwankschwindel*).[35] Povezano je to s porastom svijesti među kliničarima da postoje bolesti koje su izazvane samo poremećenom fiziološkom funkcijom, uz potpuno očuvanu organsku strukturu, uključujući centralne projekcije. Fobična posturalna vrtoglavica vrlo je čest, ali nedovoljno dijagnosticiran uzrok vrtoglavica.[4] Obično se javi nakon stresa ili neke vestibularne ili opće tjelesne bolesti. Najčešće obolijevaju opsesivno-kompulzivne osobe („žele sve imati pod kontrolom") ili reaktivno-depresivne osobe, koje imaju fluktuirajuću nesigurnost u držanju tijela pri stajanju i hodu. Takve osobe pokušavaju svjesno utjecati na držanje svojeg tijela, što ih vodi u „spiralu samopromatranja" koja za posljedicu ima doživljaj pokreta vlastitog tijela kao pokreta okoline. Pritom se javljaju napadaji straha od padanja, ali zapravo bez stvarnih padova. Uz anksioznost javljaju se i vegetativne smetnje tijekom napadaja ili neposredno nakon njih. Otoneurološko ispitivanje, kao ni dodatni testovi,

ne daju znatnih rezultata. Simptomi se često ublažavaju bavljenjem sportskim aktivnostima i konzumiranjem manjih količina alkohola (zbog anksiolitičkog i sedativnog učinka). Napadaje vrtoglavice izazivaju precipitirajuće ili egzacerbirajuće okolnosti kao što su: gužva, vožnja, prazan prostor, čekanje u redu u trgovini i sl. To često dovodi do navike izbjegavanja tih situacija. Tijekom napadaja čest je vestibularni poremećaj (25%), a još je češća prisutnost određenog stresa (70%).

Nelagoda kretanja u prostoru

Riječ je o pojavi specifičnih simptoma kod nekih bolesnika s vestibularnim poremećajem poput onih s poremećajima ravnoteže i nekih s paničnim poremećajem. Nelagoda kretanja u prostoru javlja se u situacijama koje karakteriziraju neadekvatne vizualne ili kinestetičke informacije za normalnu prostornu orijentaciju. To je kombinacija nelagode izazvane orijentacijom u prostoru i pojačanog doživljaja pokretnih podražaja. Ovakve su osobe posebno osjetljive na izlaganje aktivnom ili pasivnom kretanju (pokretne stube supermarketa, jahanje, vožnja), kao i velikim pokretnim ili oblikovanim vizualnim podražajima u okruženju (promet, prugasti uzorci, gužva).[36]

Vizualna vrtoglavica

Vizualno uzrokovana vrtoglavica heterogeni je sindrom koji se može pojaviti kod perifernih i centralnih oštećenja, u osoba čiji poremećaj ravnoteže pokazuje veliku ovisnost o podražajima u vidnom polju. Poremećaj u držanju tijela potaknut je kretnjama u okruženju kao što su: lišće ili oblaci na vjetru, prometna gužva i sl. Zbog čega pojedine osobe ovako reagiraju na vizualne podražaje zasad je nepoznato. Postoji uvjerenje da je riječ o individualnim osobnostima ličnosti, slično kao što i zdrave osobe različito reagiraju na iste vestibularne poremećaje.[37] U skorašnjem istraživanju Cousins i suradnici pokazali su da znatan dio pacijenata šest mjeseci nakon preboljeloga vestibularnog neuritisa ima teškoće vezane uz vidno polje pa su ih podijelili u „vizualno ovisne“ i „vizualno neovisne“, pretpostavljajući da je uzrok vizualne ovisnosti u neprovedenoj vestibularnoj rehabilitaciji.[38]

Sindrom kronične subjektivne vrtoglavice

Na radove Brandta i Dieterichove, Jacoba i suradnika te Bronsteina i suradnika nadovezuju se i nadopunjuju ih Jeffrey Staab i Michael Ruckenstein, potvrđujući glavne značajke PPV-a, SMD-a i VV-a i utemeljujući vezu ovog uzroka vrtoglavice s ponašanjem, anksioznošću i depresivnošću, te ga opisuju kao CSD (engl. *Chronic subjective dizzyness*).[39]

Za razliku od PPV-a, SMD-a i VV-a, kliničke osobine CSD-a Staab i Ruckenstein razvrstali su u šest skupina, od kojih prve tri služe pri postavljanju dijagnoze bolesti. Osnovni simptomi bolesti jesu: nesigurnost i nestabilnost, dezorijentiranost, koje pojedinačno ili zajedno traju danima uz manje ili veće oscilacije, tri mjeseca i dulje (vrtoglavica kružnog tipa nije osobina CSD-a!), kao i povezanost s držanjem tijela. Simptomi se javljaju samo u uspravnom stavu, pri hodu ili stajanju, puno su manje izraženi pri sjedenju, a u ležećem položaju uopće se ne javljaju. Međunarodna klasifikacija vestibularnih poremećaja prepoznaje tri skupine vestibularnih simptoma vezanih uz položaj.[40] Uz posturalne opisuju se ortostatski, koji se javljaju neposredno nakon nagle vertikalizacije tijela, i položavajući što nastupaju nakon postavljanja glave i tijela u određeni položaj u prostoru. Ortostatski i položavajući simptomi nisu ključna karakteristika CSD-a, ali se i oni katkad mogu javiti kao posljedica preosjetljivosti na pokrete. Osnovni se simptomi jave bez provokativnih čimbenika, ali ih oni pogoršavaju: aktivno ili pasivno kretanje tijela nevezano uz određeni smjer, izloženost velikim ili kompleksnim vizualnim podražajima u širokome vidnom polju, izloženost preciznom vizualnom radu na uskome vidnom polju (čitanje, rad na računalu, pametnom telefonu i sl.).

Postoje znatne rasprave oko specifičnosti i osjetljivosti tih simptoma, jer je poznato da i oboljeli od drugih vestibularnih poremećaja kao što su, npr., Ménièreova bolest, vestibularna migrena, vestibularna paroksizmija i dr., također nalaze pokrete glave ili okoline koja ih okružuje vrlo provokativnima u izazivanju vrtoglavice. Međutim, u njih se to događa samo tijekom aktivne faze bolesti, a ne stalno kao kod CSD-a. Bolesnici s centralnim vestibularnim poremećajem također mogu doživjeti pokrete glave ili okoline kao precipitirajuće čimbenike, ali oni mogu svoje simptome umanjiti zadržavanjem glave u stanju mirovanja i izbjegavanjem okoline bogate pokretima. Precipitirajući (okidački) čimbenici koji dovode do nesigurnosti, ošamućenosti i dezorijentiranosti jesu: akutni ili povratni uzroci centralne ili periferne vrtoglavice, akutni ili povratni ostali tjelesni problemi, akutni ili povratni psihijatrijski poremećaji. Kliničko i laboratorijsko ispitivanje daje, mahom, uredne rezultate. Zasad ne postoji karakteristični biomarker za CSD, ali se pokazalo da ovi bolesnici imaju jedinstveni obrazac otklona tijela od okomice u statičkoj i dinamičkoj posturografiji, a usto otežano izvode neke jednostavne zadatke.

Bihevioralni simptomi: Ovi pacijenti imaju znatno veću prevalenciju anksioznosti i depresivnosti, a i znatno manju prevalenciju ekstrovertiranosti u odnosu prema ostalim otoneurološkim bolesnicima.[41]

Dijagnoza

Postavlja se samo na osnovi povijesti bolesti: dobivanjem odgovora na ciljana pitanja koja se odnose na

kardinalne simptome bolesti, a što će iznjedriti odgovore o kroničnoj (dulje od tri mjeseca) nerotatornoj vrtoglavici vezanoj uz stav tijela, provociranoj pokretima (osjećaj vlastitog kretanja negdje u glavi, koji pacijent teško definira). Simptomi koji se pojačavaju pri promjeni položaja tijela iz sjedećega u stojeći, iz stojećega u hod i sl.: preosjetljivost na vlastite kretnje, kompleksna vizualna okruženja (trgovački centri), velike vizualne podražaje u širokome vidnom polju (osjećaj kretanja dok se stoji na semaforu), ali i teškoće pri izvođenju finih, preciznih radnja na uskome vidnom polju kao što su čitanje, rad na osobnom računalu ili pametnom telefonu.

Kriteriji za postavljanje dijagnoze jesu ovi:

A) Perzistentna nerotatorna vrtoglavica u obliku dezorijentiranosti i nestabilnosti koja kontinuirano traje najmanje 3 mjeseca, većinu dana u tjednu, ne nužno cijeli dan; često se pojačavaju protokom vremena, ali u nekim slučajevima mogu i slabjeti.

B) Provokativni ju čimbenici ne izazivaju, ali pogoršavaju je tri skupine čimbenika:

1. uspravni stav, pri hodu ili stajanju, simptomi su mnogo manje izraženi pri sjedenju, a u ležećem se položaju uopće ne javljaju
2. preosjetljivost na aktivne ili pasivne pokretne podražaje, uključujući i vlastite pokrete
3. izloženost velikim ili kompleksnim vizualnim podražajima u širokome vidnom polju.

C) Uvijek moraju postojati precipitirajući (okidački) čimbenici: akutne ili povratne vrtoglavice, tjelesne ili psihijatrijske bolesti. Pritom se, nakon završetka akutne ili povratne bolesti, PPPD razvije kao povremena, a zatim i stalna bolest. Ako je riječ o kroničnom poremećaju, PPPD se razvija polako i postupno.

D) Simptomi izazivaju znatnu onesposobljenost i funkcionalne smetnje.

E) Simptomi ne odgovaraju bolje nijednoj drugoj bolesti ili poremećaju.

Diferencijalna dijagnoza

Ovdje dolaze u obzir sve bolesti i stanja slične kliničke slike i simptomatologije kao što su kronična posturalna nestabilnost i nesigurnost. Vrlo je važno razlikovati prijašnje od trenutačnih simptoma i ne liječiti prošle probleme, već liječenje usredotočiti na sadašnje, aktualne. Glavni diferencijalnodijagnostički problem kod PPPD-a jesu: vestibularna migrena, bilateralna vestibulopatija, ortostatski tremor, neurodegenerativne bolesti SŽS-a, poremećaji vegetativnoga živčanog sustava, umjereno teške ozljede mozga, napadaji panike i opća anksioznost, *mal de débarquement*, centralni vestibularni sindrom i srčane aritmije.

Kod **vestibularne migrene** PPPD je zabilježen u oko 30% pacijenata. Nalaz kronične nestabilnosti i nesigurnosti pri stajanju i hodu između napadaja VM-a označava komorbiditet ovih dvaju entiteta i tad ih treba liječiti zajedno. Oboljeli od **bilateralne vestibulopatije** također pate od posturalne nesigurnosti i nestabilnosti, koja se pojačava pri pokretima glave. Oni su, slično oboljelima od PPPD-a, vrlo često preosjetljivi na okolinu bogatu pokretima, ali teškoće mogu ublažiti minimaliziranjem pokreta tijela. U oko 40% bolesnika s BVH-om bilježe se oscilopsije, što kod onih s PPPD-om nije slučaj, a imaju i dosta karakterističan laboratorijski nalaz u pogledu slabosti ili čak potpune nepodražljivosti labirinata pri kalorijskoj i rotacijskoj probi, kao i probi impulsa glave (engl. *Head Impulse Test*). Pacijenti s **ortostatskim tremorom** imaju teškoće pri stajanju ili hodu nakon nagle vertikalizacije, ali im ne smetaju kompleksni vizualni podražaji u širokome vidnom polju, što je jedna od bitnih osobina PPPD-a. Pri laboratorijskim pretragama kod njih se bilježi elektromiografski i posturografski karakteristični šiljak na razini 14 – 16 Hz. Pacijenti s **perifernim neuropatijama, cerebelarnom degeneracijom** i **poremećajem pokreta** također mogu izvijestiti o posturalnoj ošamućenosti i nesigurnosti, ali oni su puno manje osjetljivi na kompleksne vizualne podražaje u širokom polju, kao i na zahtjevne, precizne vizualne zadaće na uskome vidnom polju. Osim toga, sve ove bolesti imaju *progresivan tok*, kao i *brojne neurološke simptome*. Perzistentna posturalno-percepcijska vrtoglavica može se javiti kao posljedica **potresa mozga** ili **trzajne ozljede vrata**, obično nekoliko dana nakon ozljeđivanja, ali se pojava novog PPPD-a ne može povezati s ozljeđivanjem nastalim prije duljeg vremena. Poremećaji vegetativnoga živčanog sustava, kao što su **vazovagalne sinkope ili sindrom posturalne ortostatske tahikardije**, također mogu oponašati ili koegzistirati s PPPD-om. Dakako, ovdje se simptomi pretežito javljaju nakon naglog postavljanja u uspravan položaj, a klinički i laboratorijski nalaz prilično je karakterističan (ortostatska hipotenzija, nalaz probe na nagibnom stolu (engl. *Tilt-up table test*) i dr.). Kod ***mal de débarquement*** osjećaj se ljuljanja, kotrljanja i nestabilnosti javlja neposredno nakon napuštanja broda, aviona, vlaka, automobila i sl. i traje najčešće nekoliko sati. Zanimljivo je da se oboljeli bolje osjećaju ako su ponovo izloženi pasivnom kretanju, a da im je najgore ako se umire, što je u potpunoj suprotnosti s PPPD-om.

Liječenje

Farmakoterapija

Rabe se lijekovi iz skupine ***selektivnih inhibitora ponovne pohrane serotonina*** (*fluvoksamin*, *fluoksetin*, *paroksetin*, *sertralin*, *citalopram*, *escitalopram*) i ***selektivnih inhibitora ponovne pohrane serotonina i noradrenalina*** (*venlafaksin*, *duloksetin*).[42] Primarni simptomi bolesti gotovo se prepolove s pomoću navedenih

lijekova kod 60 – 70% pacijenata koji su pristupili kliničkim istraživanjima, a u više od 80% onih koji su istraživanja u trajanju od 8 do 12 tjedana i završili. Pri komorbiditetima s anksioznošću i depresivnošću one se znatno poboljšavaju primjenom tih lijekova. Doza lijeka u početku je liječenja na razini četvrtine do polovice uobičajene doze pri liječenju depresije pa se postupno titrira do uobičajenih doza za depresiju. Više su doze katkad potrebne ako postoji komorbiditet s nekom od psihijatrijskih bolesti ili ako dominira anksiozna simptomatika (pritom doze mogu biti i dvostruko više od onih u depresivnih bolesnika). Liječenje bi trebalo trajati 8 – 12 tjedana.

U početku primjene ovih lijekova smatralo se da oni neće imati dobar učinak pri liječenju FVP-a, jer je vrtoglavica jedna od njihovih vrlo čestih nuspojava. Međutim, brojna ispitivanja koja su uslijedila pokazala su dobrobit primjene ovih lijekova bez obzira na spomenutu činjenicu.[43–47] Pokazalo se da pacijenti odlično podnose lijek, da se simptomi bolesti reduciraju za više od 50% i da su za to potrebna bar 3 – 4 mjeseca upornog liječenja. Međutim, svi ovi prvi rezultati mogu se uzeti samo kao preliminarni dok se ne provedu dvostruko slijepe kliničke studije.

Kratkotrajna primjena ***benzodiazepina*** korisna je jedino kod pacijenata s naglašenim komorbiditetima anksioznosti i depresivnosti, a inače ne daje bitne rezultate. Visokopotentni benzoadiazepini (*alprazolam, klonazepam*) imaju prednost pred niskopotentnima (*diazepam, oksazepam*), i to zbog veće učinkovitosti i manje mogućnosti navikavanja. Izbor benzodiazepina treba biti individualan, a liječenje valja započeti sa što nižom dozom i postupno ju povisivati do uklanjanja simptoma. Ne preporučuje se kontinuirana primjena benzodiazepina dulja od 6 mjeseci (zbog gubitka učinka i stvaranja ovisnosti). Izuzev ove lijekove, u obzir dolazi i primjena ***nebenzodiazepinskih anksiolitika***, čiji je najvažniji predstavnik *buspiron*. To je agonist presinaptičkih i postsinaptičkih receptora 5-HT1A. On ne izaziva pojavu tolerancije i razvoj ovisnosti.

Vestibularna rehabilitacija

Brojne kliničke studije pokazale su dobrobit vestibularne rehabilitacije (VR) kod bolesnika s vrtoglavicom. Međutim, dosad su objavljene samo dvije prospektivne kliničke studije koje su uključile funkcionalne poremećaje kod bolesnika i pokazale dobrobit VR-a ublažavanjem simptoma i u tih bolesnika.[48,49] Pritom je uočena veća dobrobit za simptome vlastitih pokreta u odnosu prema vizualnim kretnjama u okruženju. Vestibularna rehabilitacija ovdje se temelji na identifikaciji provokativnih pokreta i zatim njihovoj demonstraciji pacijentu kako bi shvatio da je strah od njihova izvođenja potpuno neutemeljen. Klasični protokoli najčešće primjenjivanih adaptacijskih i supstitucijskih vježba nisu pogodni pri funkcionalnim vestibularnim poremećajima, nego se ovdje primjenjuju individualno prilagođene habituacijske ili ekspozicijske vježbe. Njima se pacijenta postupno, kratkotrajno i uporno izlaže okolnostima i čimbenicima koji uzrokuju vrtoglavicu ili ju pogoršavaju, a radi razvijanja tolerancije i uklanjanja preosjetljivosti prema njima. Znatnu dobrobit postižu i vježbe kondicioniranja poremećenog držanja tijela pri stajanju i hodu. Vježbe treba izvoditi u seansama od pet puta zaredom, najmanje dva puta na dan. Preporučuju se također umjereni aerobik ili program hodanja, jer se pokazalo da što je osoba aktivnija, veća je vjerojatnost oporavka.[49] Važno je započeti s lakšim vježbama, koje se zatim pažljivo i postupno pojačavaju, jer u suprotnome mogu izazvati egzacerbaciju bolesti, zbog čega bolesnici vrlo često potpuno prestaju s daljnjom terapijom koju doživljavaju neučinkovitom. Najbolji rezultati postižu se nakon 3 – 6 mjeseci upornog vježbanja.

Kognitivno-bihevioralna terapija

Kognitivno-bihevioralna terapija (KBT) kombinacija je kognitivne i bihevioralne terapije pri čemu svaka od njih zadržava svoje specifičnosti. Kognitivna terapija (KT) usmjerena je na neodgovarajuće (štetne) kognicije (negativne automatske misli, bazična vjerovanja, kognitivna shema). Bihevioralna terapija (BT), polazeći od toga da je svaki simptom bolesti naučen, iskorištava procese učenja za njihovo uklanjanje. Kognitivnom terapijom početno se mijenja kognicija, a dugoročno i ponašanje, dok se BT-om prvo mijenja ponašanje, a poslije dolazi do promjena i u kogniciji. Zajednička primjena ovih terapija, u obliku KBT-a, omogućuje brže poboljšanje i dulju remisiju. Najvažnije tehnike KBT-a jesu mijenjanje negativnih automatskih misli, refokusiranje pažnje, reatribucija, sustavno i postupno izlaganje (desenzibilizacija), izlaganje odjedanput (preplavljivanje), *biofeedback* i dr. Zasad postoji samo nekoliko kliničkih studija koje se bave ovom temom. Jedina dugotrajna studija koja je pratila 15 pacijenata oboljelih od PPV-a i 16 kontrola tijekom godine dana[50] pokazala je da primjenom KBT-a dolazi do znatnoga kratkotrajnog poboljšanja simptoma bolesti. Međutim, gledano dugoročno, učinak liječenja nije predugo potrajao. Također, primijećeno je da rana primjena kratkotrajnog KBT-a može spriječiti kronificiranje bolesti. S druge strane, liječenje dugotrajne bolesti KBT-om dat će mnogo slabije rezultate. Studija provedena na bolesnicima s CSD-om pokazuje doista spektakularne rezultate (veličina učinka = 0,98 – 1,15) pri ublažavanju simptoma bolesti već nakon tri provedene seanse KBT-a.[51] Ovi su rezultati toliko dobri i toliko odstupaju od prije iznesenih da su nužne njihova daljnja evaluacija i provjera, osobito s

obzirom na to da su rezultati liječenja KBT-om bolji i u odnosu prema njegovoj primjeni kod drugih bolesti. Nijedna od ovih studija nije našla znatno smanjenje komorbiditeta anksioznosti i depresivnosti nakon provedenog KBT-a.

Prognoza

Znatno se razlikuje kod osoba s komorbiditetom i onih bez njega. Kod pacijenata bez komorbiditeta, a njih je mnogo više (60 – 80%), do poboljšanja dolazi u više od polovice bolesnika nakon ustrajne terapije tijekom 3 – 4 mjeseca. Nasuprot tomu, kod pacijenata s komorbiditetom (20 – 40%) ni nakon 6 mjeseci nema znatnog napretka unatoč svoj primijenjenoj terapiji. Treba naglasiti da najveći dio (više od 70%) oboljelih i nekoliko godina nakon početka bolesti i dalje pokazuje simptome bolesti i ima znatno narušenu kvalitetu života.[52,53]

Ostali zasad neklasificirani funkcionalni vestibularni poremećaji

Jedan od njih jest **kronična, uporna vrtoglavica** – nestabilnost i prostorna dezorijentiranost nevezane uz položaj, stav tijela, razinu aktivnosti ili izlaganje vanjskim pokretnim podražajima.

Drugi takav poremećaj uključuje: **doživljaj istodobnog kretanja u različitim ravninama**, oko različitih rotacijskih osi; doživljaj kovitlanja cijeloga vidnog polja ili kaleidoskopsko kretanje vizualnog okruženja. Klinička opažanja navode da se ovi poremećaji najčešće javljaju vezani uz neke somatske poremećaje kao što su kronična bol ili kronični umor.

Treći funkcionalni vestibularni poremećaj jest **voljni nistagmus**. Sva tri spomenuta poremećaja puno su rjeđa od PPPD-a i trenutačno očekuju bolju evaluaciju.

Zaključak

Funkcionalni poremećaji ravnoteže posljedica su bliskih anatomsko-fizioloških veza između anksioznosti, prostorne orijentacije i lokomotorne kontrole u mozgu. Desetljeća kliničkih istraživanja akutnih, povratnih ili kroničnih vrtoglavica pridonijela su njihovu boljem razumijevanju i iznjedrila diferencijalnodijagnostičku shemu koja uključuje primarnu i sekundarnu anksioznost/depresivnost kao česti uzrok ili posljedicu vestibularnih poremećaja. Jedan od glavnih FVP-a, **posturalno-percepcijska vrtoglavica** (engl. *Persistent postural-perceptual dizziness* – PPPD) uključena je kao novi entitet postignut konsenzusom u nacrt ICD-11 (*ICD-11 beta draft*), u kategoriju kroničnih vestibularnih poremećaja, unaprjeđujući i obogaćujući vestibularnu dijagnostiku. Napredak na ovom polju pruža bolje razumijevanje neuralnih mehanizama stajanja, hoda i doživljaja prostora, kao i optimizam u pokušajima rasvjetljavanja i klasificiranja dosad neklasificiranih vestibularnih poremećaja. Radi boljitka naših pacijenata, u budućnosti bi bilo poželjno napustiti desetljećima star dihotomni dijagnostički pristup vestibularnim poremećajima i primijeniti novi, integrativni, koji jedinstveno obuhvaća i strukturne i funkcionalne, a i psihičke poremećaje.

LITERATURA

1. *Strupp M, Brandt T.* Diagnosis and treatment of vertigo and dizziness. Dtsch Arztebl Int 2008;105:173–80.
2. *Neuhauser HK.* The epidemiology of dizziness and vertigo. Handb Clin Neurol 2016;137:67–82.
3. *Jahn K.* Vertigo and balance in children-diagnostic approach and insights from imaging. Eur J Paediatr Neurol 2011;15: 289–94.
4. *Strupp M, Thurtell MJ, Shaikh AG, Brandt T, Zee DS, Leigh RJ.* Pharmacotherapy of vestibular and ocular motor disorders, including nystagmus. J Neurol 2011;258:1207–22.
5. *Best C, Tschan R, Eckhardt-Henn A, Dieterich M.* Who is at risk for ongoing dizziness and psychological strain after a vestibular disorder? Neuroscience 2009;164:1579–87.
6. *Dieterich M, Staab JP.* Functional dizziness: from phobic postural vertigo and chronic subjective dizziness to persistent postural-perceptual dizziness. Curr Opin Neurol 2017;3: 107–13.
7. *Staab JP, Ruckenstein MJ.* Which comes first? Psychogenic dizziness versus otogenic anxiety. Laryngoscope 2003;113: 1714–8.
8. *Staab JP, Balaban CD, Furman JM.* Threat assessment and locomotion: clinical applications of an integrated model of anxiety and postural control. Semin Neurol 2013;33:297–306.
9. *Balaban CD.* Projections from the parabrachial nucleus to the vestibular nuclei: potential substrates for autonomic and limbic influences on vestibular responses. Brain Res 2004; 996:126–37.
10. *Tamietto M, de Gelder B.* Neural bases of the non-conscious perception of emotional signals. Nat Rev Neurosci 2010;11: 697–709.
11. *Indovina I, Riccelli R, Staab JP, Lacquaniti F, Passamonti LJ.* Personality traits modulate subcortical and cortical vestibular and anxiety responses to sound-evoked otolithic receptor stimulation. Psychosom Res 2014;77:391–400.
12. *Riccelli R, Indovina I, Staab JP i sur.* Neuroticism modulates brain visuo-vestibular and anxiety systems during a virtual rollercoaster task. Hum Brain Mapp 2017;38:715–26.
13. *Holle D, Schulte-Steinberg B, Wurthmann S i sur.* Persistent Postural-Perceptual Dizziness: A Matter of Higher, Central Dysfunction? PLoS ONE 2015;10:e0142468.
14. *Wurthmann S, Naegel S, Schulte-Steinberg B i sur.* Cerebral grey matter changes in persistent postural perceptual dizziness. J Psychosom Res 2017;103:95–101.
15. *Edwards MJ, Adams RA, Brown H, Pareés I, Friston KJ.* A Bayesian account of 'hysteria'. Brain 2012;135:3495–512.
16. *Popkirov S, Staab JP, Stone J.* Persistent postural-perceptual dizziness (PPPD): a common, characteristic and treatable cause of chronic dizziness. Pract Neurol 2018;18:5–13.
17. *Seemungal BM, Passamonti L.* Persistent postural-perceptual dizziness: a useful new syndrome. Pract Neurol 2018;18:3–4.

18. *Zigmond AS, Snaith RP.* The hospital anxiety and depression scale. Acta Psychiatr Scand 1983;67:361–70.
19. *Bjelland I, Dahl AA, Haug TT, Neckelmann D.* The validity of the Hospital Anxiety and Depression Scale. An updated literature review. J Psychosom Res 2002;52:69–77.
20. *Kroenke K, Spitzer RL, Williams JBW, Löwe B.* An ultra-brief screening scale for anxiety and depression: the PHQ-4. Psychosomatics 2009;50:613–21.
21. *American Psychiatric Association.* The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 5 izd. Washington, DC: American Psychiatric Association; 2013.
22. ICD-11 beta draft. World Health Organization, Geneve; 2015.
23. *Sklare DA, Stein MB, Pikus AM, Uhde TW.* Dysequilibrium and audiovestibular function in panic disorder: symptom profiles and test findings. Am J Otol 1990;11:338–41.
24. *Godemann F, Siefert K, Hantschke-Brüggemann M, Neu P, Seidl R, Ströhle AJ.* What accounts for vertigo one year after neuritis vestibularis – anxiety or a dysfunctional vestibular organ? Psychiatr Res 2005;39:529–34.
25. *Heinrichs N, Edler C, Eskens S, Mielczarek MM, Moschner C.* Predicting continued dizziness after an acute peripheral vestibular disorder. Psychosom Med 2007;69:700–7.
26. *Nagai K, Yamada M, Uemura K i sur.* Effects of fear of falling on muscular coactivation during walking. Aging Clin Exp Res 2012;24:157–61.
27. *Young WR, Wing AM, Hollands MA.* Influences of state anxiety on gaze behavior and stepping accuracy in older adults during adaptive locomotion. J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci 2012;67:43–51.
28. *Julius LM, Brach JS, Wert DM, Van Swearingen JM.* Perceived Effort of Walking: Relationship With Gait, Physical Function and Activity, Fear of Falling, and Confidence in Walking in Older Adults With Mobility Limitations. Phys Ther 2012;92: 1268–77.
29. *Schäffler F, Muller M, Huppert D i sur.* Consequences of visual height intolerance for quality of life: a qualitative study. Qual Life Res 2014;23:697–705.
30. *Westphal C.* Die Agoraphobie. Eine neuropathische Erscheinung. Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten 1871;3: 138–61.
31. *Cevette MJ, Puetz B, Marion MS, Wertz ML, Muenter MD.* Aphysiologic performance on dynamic posturography. Otolaryngol Head Neck Surg 1995;112:676–88.
32. *Mallinson AI, Longridge NS.* A new set of criteria for evaluating malingering in work-related vestibular injury. Otol Neurotol 2005;26:686–90.
33. *Söhsten E, Bittar RS, Staab JP.* Posturographic profile of patients with persistent postural-perceptual dizziness on the sensory organization test. J Vestib Res 2016;26:319–26.
34. *Nakao M, Yano E.* Predictor of major depression in Japan adults: somatic manifestation of depression in annual health examinations. J Affect Disord 2006;90:29–35.
35. *Brandt TH, Dieterich M.* Phobischer Attacken-Schwankschwindel, ein neues Syndrom. Münch Med Wschr 1986; 128:247–50.
36. *Jacob RG, Woody SR, Clark DB i sur.* Discomfort with space and motion: A possible marker of vestibular dysfunction assessed by the situational characteristics questionnaire. J Psychopathol Behav Assess 1993;15:299–324.
37. *Bronstein AM.* Visual vertigo syndrome: clinical and posturography findings. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1995; 59:472–6.
38. *Cousins S, Cutfield N, Kaski D i sur.* Visual Dependency and Dizziness after Vestibular Neuritis. PLoS One 2014;9:e105426.
39. *Staab JP, Ruckenstein MJ.* Expanding the differential diagnosis of chronic dizziness. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2007;133:170–6.
40. *Bisdorff A, Von Brevern M, Lempert T, Newman-Toker DE.* Classification of vestibular symptoms: towards an international classification of vestibular disorders. J Vestib Res 2009; 19:1–13.
41. *Staab JP, Rohe DE, Eggers SD, Shepard NT.* Anxious, introverted personality traits in patients with chronic subjective dizziness. J Psychosom Res 2014;76:80–3.
42. *Spiegel R, Rust H, Baumann T i sur.* Treatment of dizziness: an interdisciplinary update. Swiss Med Wkly 2017;147:w14566.
43. *Staab JP, Ruckenstein MJ, Solomon D, Shepard NT.* Serotonin reuptake inhibitors for dizziness with psychiatric symptoms. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 2002;128:554–60.
44. *Staab JP, Ruckenstein MJ, Amsterdam JD.* A prospective trial of sertraline for chronic subjective dizziness. Laryngoscope 2004;114:1637–41.
45. *Horii A, Mitani K, Kitahara T, Uno A, Takeda N, Kubo T.* Paroxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor, reduces depressive symptoms and subjective handicaps in patients with dizziness. Otol Neurotol 2004;25:536–43.
46. *Horii A, Uno A, Kitahara T i sur.* Effects of fluvoxamine on anxiety, depression, and subjective handicaps of chronic dizziness patients with or without neuro-otologic diseases. J Vestib Res 2007;17:1–8.
47. *Simon NM, Parker SW, Wernick-Robinson M i sur.* Fluoxetine for vestibular dysfunction and anxiety: a prospective pilot study. Psychosomatics 2005;46:334–9.
48. *Meli A, Zimatore G, Badaracco C, De Angelis E, Tufarelli D.* Effects of vestibular rehabilitation therapy on emotional aspects in chronic vestibular patients. J Psychosom Res 2007; 63:185–90.
49. *Thompson KJ, Goetting JC, Staab JP, Shepard NT.* Retrospective review and telephone follow-up to evaluate a physical therapy protocol for treating persistent postural-perceptual dizziness: A pilot study. J Vestib Res 2015;25:97–103.
50. *Holmberg J, Karlberg M, Harlacher U, Magnusson M.* One-year follow-up of cognitive behavioral therapy for phobic postural vertigo. J Neurol 2007;254:1189–92.
51. *Edelman S, Mahoney AE, Cremer PD.* Cognitive behaviour therapy for chronic subjective dizziness: a randomized, controlled trial. Am J Otolaryngol 2012;33:395–401.
52. *Yardley L, Redfern MS.* Psychological factors influencing recovery from balance disorders. J Anxiety Disord 2001;15: 107–19.
53. *Eckhardt-Henn A, Breuer P, Thomalske C, Hoffmann SO, Hopf HC.* Anxiety disorders and other psychiatric subgroups in patients complaining of dizziness. J Anxiety Disord 2003; 17:369–88.

Hrvatsko društvo za kliničku citologiju
Hrvatski liječnički zbor

klinička bolnica MERKUR

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU MEDICINSKI FAKULTET

HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR 1874

60. OBLJETNICA
KLINIČKE CITOLOGIJE U KB MERKUR

SIMPOZIJ

Kliničko-dijagnostički multidisciplinarni pristup u području mijelodisplazija, poremećaja i bolesti endometrija i štitnjače


SONI MED

Liječ Vjesn 2019;141:207–208
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-25

Uvodnik | Leading article

60 godina kliničke citologije u Kliničkoj bolnici Merkur

60 years of clinical cytology in Merkur University Hospital Zagreb

Citologija u Merkuru sanjala je i dosanjala „raskoš od citologije".
Ika Kardum-Skelin

Djelatnici Zavoda za kliničku citologiju i citogenetiku (ZKCC) KB-a Merkur proslavili su 11. prosinca 2015. godine 60 godina kliničke citologije u toj ustanovi. Ponosni zbog bogate tradicije citologije, održali smo Simpozij posvećen učiteljima: prof. dr. sc. Ingi Črepinko, prof. dr. sc. Eriku Hauptmannu, dr. sc. Zvonimiru Papiću, prof. dr. sc. Zvonimiru Singeru i prof. dr. sc. Zdenku Škrabalu, eminentnim stručnjacima i znanstvenicima međunarodnog ugleda. Tijekom 60 godina postojanja citologija KB-a Merkur do današnjeg je dana u samome svjetskom vrhu zahvaljujući ponajprije entuzijazmu njezinih djelatnika koji njeguju profesionalan odnos prema struci, koja je interdisciplinarna, nije stereotipna i ne uklapa se u već ustaljene, poznate i tradicionalne specijalnosti.

Počeci su vezani uz dolazak prof. dr. Inge Črepinko 1955. godine u Zavod za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu na čijem je čelu tada bio prof. dr. Ibrahim Ruždić, medicinski biokemičar, kada je osnovan laboratorijsko-hematološki odsjek. Za osnivanje kliničko-citoloških laboratorija najzaslužniji su, uz prof. Črepinko, kliničari prof. Erik Hauptmann (Laboratorij za citologiju i hematologiju Klinike za unutarnje bolesti), prof. Zvonimir Singer (Odsjek za ginekološku citologiju i citogenetiku Klinike za ženske bolesti i porode) te prof. Zdenko Škrabalo i dr. sc. Zvonimir Papić (Citološki laboratorij za endokrinološku citologiju Sveučilišne klinike „Vuk Vrhovac").

U uvodnom dijelu Simpozija o „Citologiji u KB-u Merkur – jučer, danas, sutra" govorila je prof. dr. sc. Ika Kardum-Skelin, a o „Europskom udruženju citotehnologa – jučer, danas, sutra" citotehnologinja Veronika Anić.

Stručni dio Simpozija obuhvatio je kliničko-dijagnostički multidisciplinarni pristup u području mijelodisplazija, poremećaja i bolesti endometrija i štitnjače. Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti u Kliničkoj bolnici Merkur u rujnu 2015. g. postao je Referentni centar za mijelodisplastični sindrom Ministarstva zdravstva RH, što je bio razlog izbora prve teme Simpozija.

O novostima u mijelodisplastičnom sindromu s različitih aspekata govorili su kliničari hematolozi i dijagnostičari raznih struka (citolozi, patolozi i medicinski biokemičari): prof. dr. sc. Slobodanka Ostojić



Djelatnice Zavoda za kliničku citologiju i citogenetiku, sudionice Simpozija: Marijana Baburić (citotehnologinja), prim. dr. sc. Ines Krivak Bolanča (voditeljica Odjela za ginekološku citologiju), prim. dr. Suzana Katalenić Simon, Sanja Rakek-Novak (citotehnologinja) i Ljiljana Gavranović (citotehnologinja)



Djelatnice Zavoda za kliničku citologiju i citogenetiku, sudionice Simpozija. Stoje: dr. Mia Šunjić Stakor, prim. dr. sc. Gordana Kaić (sadašnja v. d. pročelnice Zavoda i voditeljica Odjela za aspiracijsku citologiju), Gordana Knežević (citotehnologinja), prim. dr. Biljana Jelić Puškarić, Veronika Anić (citotehnologinja i sadašnja predsjednica Europskog udruženja citotehnologa), Ana Goleš-Babić (administratorica); sjede: prof. dr. sc. Ika Kardum-Skelin (pročelnica Zavoda do umirovljenja 2019. g. i bivša predsjednica Europskog udruženja citologa), prim. dr. sc. Karmela Šentija i dr. Dunja Šušterčić (u mirovini)

Kolonić, dr. sc. Njetočka Gredelj Šimec, prof. dr. sc. Ika Kardum-Skelin, prim. dr. Biljana Jelić Puškarić, prim. dr. sc. Gordana Kaić, doc. dr. sc. Anita Škrtić, mr. sc. Zoran Šiftar, prof. dr. sc. Mirjana Mariana Kardum Paro, dr. sc. Ružica Lasan Trčić i dr. Inga Mandac Rogulj. Drugu temu, o citologiji poremećaja i bolestima endometrija obradile su prim. dr. sc. Ines Krivak Bolanča, prim. dr. sc. Karmela Šentija i prim. dr. Suzana Katalenić Simon. Uvodno predavanje o multidisciplinarnom pristupu dijagnostici raka endometrija održao je kliničar ginekolog i opstetričar prof. dr. sc. Vlastimir Kukura. Dr. Mia Šunjić Stakor prikazala je zanimljiv slučaj papilarnog karcinoma štitnjače u scintigrafski vrućem čvoru.

Radovi vezani za teme Simpozija, a koji su prema pravilima i uputama Liječničkog vjesnika (LV) prošli dvostruku recenziju, bit će objavljeni u dva tematska broja LV-a.

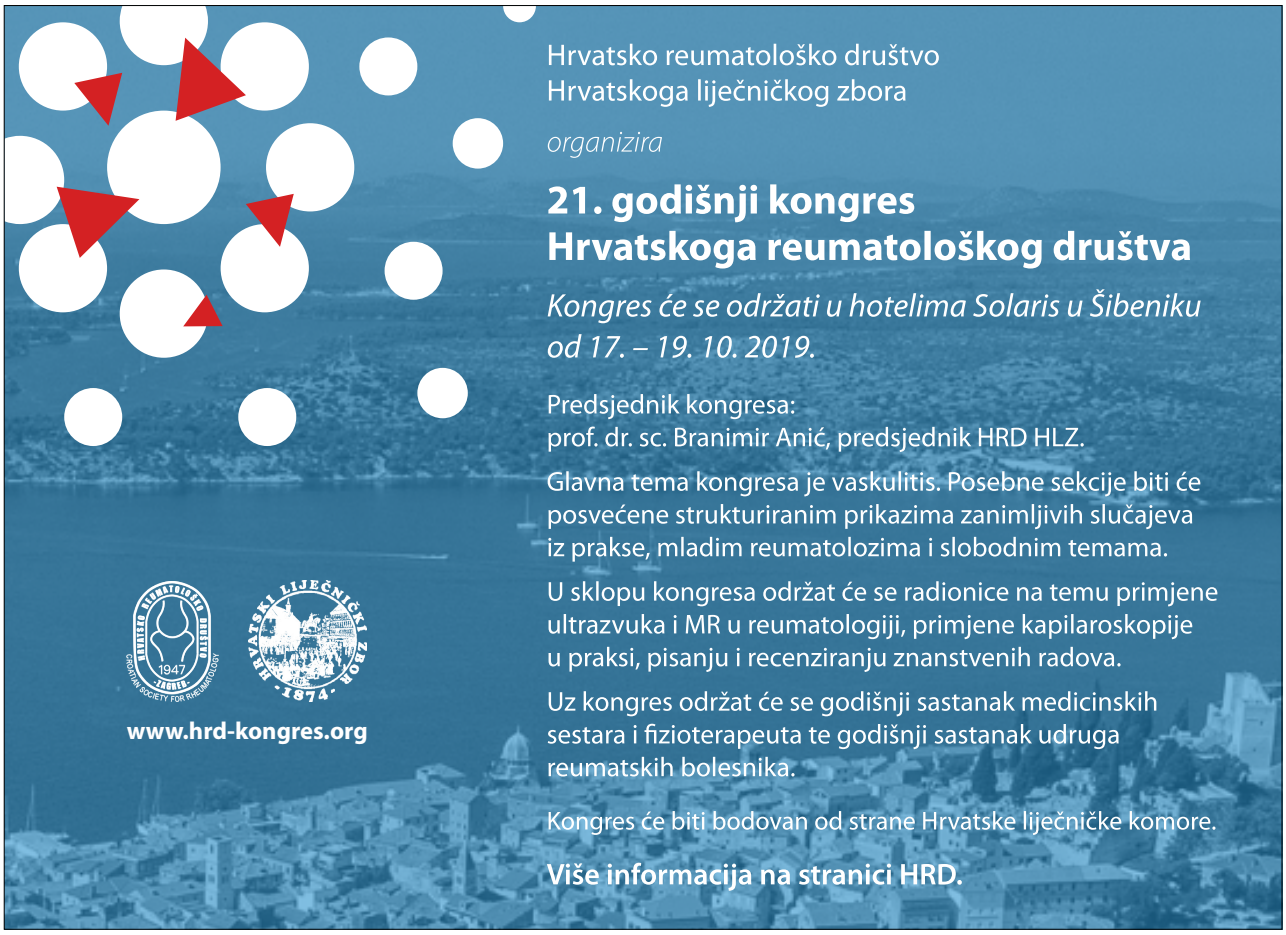
Organizatorice Simpozija

Prof. dr. sc. prim. Ika Kardum-Skelin,
pročelnica ZKCC-a do odlaska u mirovinu 2019. g.

Prim. dr. sc. Gordana Kaić,
sadašnja v. d. pročelnice ZKCC-a
i voditeljica Odjela za aspiracijsku citologiju ZKCC-a

Prim. dr. sc. Ines Krivak Bolanča,
voditeljica Odjela za ginekološku citologiju ZKCC-a

Vijest | News



Liječ Vjesn 2019;141:209–213
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-26

Pregled | Review

Mijelodisplastični sindrom – nove spoznaje i „stara" morfologija

Myelodysplastic syndromes – new discoveries and an "old" morphology

Gordana Kaić[1], Biljana Jelić Puškarić[1], Marina Pažur[1], Mia Šunjić Stakor[1], Slobodanka Ostojić Kolonić[2,3]✉, Delfa Radić Krišto[2,4], Marko Martinović[2], Ika Kardum-Skelin[1,3]

[1] Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb
[2] Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur, Zagreb
[3] Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
[4] Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek

Deskriptori
MIJELODISPLASTIČNI SINDROMI – genetika, patologija; ERITROPOEZA – genetika; MUTACIJA; KROMOSOMSKE ABERACIJE; HUMANI KROMOSOMI, PAR 5 – genetika; KROMOSOMSKA DELECIJA; RIBOSOMALNI PROTEINI – genetika; RIBONUKLEOPROTEINI – genetika; ČIMBENICI SPAJANJA RNK – genetika; FENOTIP

SAŽETAK. Mijelodisplastični sindrom heterogena je grupa bolesti koje dijele neka klinička i morfološka obilježja. Uzrok im je nepoznat. Budući da brz razvoj molekularne genetike omogućuje uvid u uzročne genske aberacije, danas se mogu odrediti neki patogenetski mehanizmi u nastanku mijelodisplastičnog sindroma. U ovom radu pokušat ćemo objasniti neka otkrića u tom području i njihovu vezu s citomorfološkim obilježjima, fenotipom mijelodisplastičnog sindroma.

Descriptors
MYELODYSPLASTIC SYNDROMES – genetics, pathology; ERYTHROPOIESIS – genetics; MUTATION; CHROMOSOME ABERRATIOS; CHROMOSOMES, HUMAN, PAIR 5 – genetics; CHROMOSOME DELETION; RIBOSOMAL PROTEINS – genetics; RIBONUCLEOPROTEINS – genetics; RNA SPLICING FACTORS – genetics; PHENOTYPE

SUMMARY. Myelodysplastic syndromes (MDS) are a heterogenous group of diseases sharing some clinical and morphological features. Their cause is unknown. Since the rapid development of molecular genetics allows an insight into underlying genetic aberrations, today it is possible to determine some pathogenetic mechanisms in MDS. In this presentation we would like to explain some of the discoveries in this area and their connection to the myelodysplastic phenotype as seen in everyday cytomorphology work.

Mijelodisplastični sindrom (MDS) čini nekoliko sličnih bolesti definiranih zajedničkim obilježjima – poremećenim stvaranjem i sazrijevanjem krvnih stanica u koštanoj srži, što dovodi do manjka funkcionalno sposobnih stanica u perifernoj krvi uz manju ili veću vjerojatnost progresije u akutnu leukemiju. U skladu s time osnovni dijagnostički kriteriji jesu postojanje jedne ili više citopenija, displastične morfološke promjene na jednoj ili više hematopoetskih loza i eventualna prisutnost nezrelih stanica, blasta, u koštanoj srži i perifernoj krvi te citogenetički dokazane, kromosomske abnormalnosti karakteristične za MDS.[1–3]

Uzrok je mijelodisplazije nepoznat, a u svim definicijama govori se o „klonskoj bolesti matične hematopoetske stanice". Unatoč napretku znanosti biološki mehanizmi u podlozi MDS-a i dalje su nerazjašnjeni te se intenzivno istražuju. U ovom članku ukratko ćemo iznijeti pregled aktualnih hipoteza i onoga što se danas zna o nastanku tog sindroma te pokušati objasniti dva dobro poznata citomorfološka obilježja MDS-a u svjetlu novih spoznaja.

Rasprava

Većinu MDS-a čine slučajevi *de novo*, čak 85 – 90% svih bolesnika, dok sekundarni, najčešće postterapijski slučajevi čine 10 – 15%. Starenje organizma najvažniji je rizični čimbenik za razvoj primarnog MDS-a, a incidencija raste sa životnom dobi.[4] Pretpostavlja se da se tijekom života starenjem ili drugim nepovoljnim okolišnim ili genskim učincima iscrpljuju zaštitni mehanizmi koji nas štite od genskih grešaka u hematopoetskoj matičnoj stanici. Poremećaji koji nastaju nedovoljni su da bi prouzročili njezinu smrt i abnormalni klon opstaje na životu. U povoljnijem kontekstu vjerojatno se dodatno aktiviraju neki kompenzirajući mehanizmi različita raspona djelotvornosti, čime se može objasniti postojanje identičnih genskih grešaka kod starije populacije bez znakova bolesti i kod oboljelih od različitih mijelodisplastičnih entiteta. Nepovoljan kontekst vjerojatno dopušta gomilanje abnormalnosti, što vodi množenju nezrelih stanica i smrtnom ishodu.[5]

Već dugo se zna da su u pozadini MDS-a genske alteracije, ali tek danas shvaćamo da one nastaju na nekoliko različitih nivoa, detektabilnih na mikroskopskoj razini (citogenetička analiza kromosomskih ano-

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prof. dr. sc. Slobodanka Ostojić Kolonić, Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur, I. Zajca 19, 10000 Zagreb;
e-mail: ostojić@net.hr

Primljeno 6. svibnja 2019., prihvaćeno 1. srpnja 2019.

malija) i submikroskopskoj razini (molekularna analiza genskih i epigenetičkih promjena te promjena RNK).[6] Iako je nalaz konvencionalne citogenetike ključan u dijagnozi, klasifikaciji i prognozi MDS-a, u više od polovice slučajeva *de novo* ne nalazimo morfološki detektabilne anomalije broja i izgleda kromosoma. Ako postoje, citogenetičke aberacije u MDS-u uglavnom su parcijalni ili kompletni gubitak kromosoma, rjeđe njihov višak. Među učestalijim greškama, prognostički vrlo nepovoljnima, jesu oštećenja kromosoma 7. Čest je i gubitak, odnosno delecija dugog kraka kromosoma 5 (5q-), bilo da se pojavljuje samostalno ili, češće, u kombinacijama s drugim defektima. Patogenetska veza brojčanih i strukturnih promjena kromosoma s razvojem MDS-a nejasna je, a pretpostavlja se da je u delecijama i monosomijama ključni mehanizam haploinsuficijencija.[6]

Haploinsuficijencija gena nastaje kad diploidni organizam ima samo jednu funkcionalnu kopiju gena. Druga mu je kopija inaktivirana gubitkom genskog materijala ili mutacijom. Preostala funkcionalna kopija nije dovoljna za npr., produkciju proteina pa nastupaju poremećaj ili bolest. Haploinsuficijentni geni u MDS-u uglavnom su slabo istraženi i tek se trebaju utvrditi.[6]

Komplementarnom primjenom novih tehnologija molekularne dijagnostike danas su u više od 70% bolesnika s MDS-om dokazane mutacije brojnih gena. Međutim, te mutacije nisu sve jednako važne. Često nisu specifične, a većina ima malenu incidenciju. Samo mali dio tih mutacija zajednički je velikom broju bolesnika, odnosno, učestalo se javljaju. Geni zahvaćeni takvim greškama odgovorni su za ključne stanične procese, a uzročne mutacije nazivaju se pogonske (engl. *driver*) mutacije. One stanici u kojoj nastaju daju selektivnu prednost rasta (npr., zbog povećane otpornosti na apoptozu). Pri dijagnozi bolesnici obično imaju dvije do tri onkogene, pogonske mutacije i stotine usputnih (engl. *passenger*) mutacija. Usputne mutacije, za razliku od pogonskih, nemaju ni direktni ni indirektni utjecaj na selektivni rast klona.

Oko polovice bolesnika ima pogonsku mutaciju jednog od gena za spajanje RNK (engl. *splicing factors* – SF), najčešće *SF3B1*, *U2AF1*, *SRSF2* i *ZRSR2*. Te su mutacije međusobno isključive.[7] Pretpostavlja se da se mutacije gena koji pripadaju istom biološkom putu ne pojavljuju zajedno jer to ne donosi dodatnu prednost rasta ili stanica ne može preživjeti takve mutacije.

Otprilike isto toliko bolesnika nosi i mutacije jednog ili više gena epigenetičke regulacije (ER), najčešće *TET2*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *EZH2* i *IDH1/2*. U dijelu slučajeva mutacije gena SF-a i ER-a preklapaju se pa oko četvrtina bolesnika ima obje vrste mutacija. Brojni drugi geni mogu biti komutirani s genima SF-a i ER-a, a u oko 15% bolesnika takve mutacije nastaju samostalno. To su obično geni transkripcijskih faktora (*RUNX1*, *ETV6*, *PHF6*, *GATA2*), kinaznih signalnih putova (*NRAS*, *KRAS*, *JAK2*, *CBL*), geni za reparaciju DNK i drugi. Bolesnici s mutacijom gena *TP53* obično imaju manje suradnih mutacija, a umjesto toga imaju brojne kromosomske abnormalnosti, uključujući kompleksni kariotip. Samo mali dio bolesnika, njih oko 5%, nema dokazanih mutacija ni abnormalnosti kariograma.[8]

Današnje shvaćanje patofiziologije mijelodisplazije

Danas se smatra da je prvi korak u patogenezi MDS-a nastanak temeljne, pogonske mutacije u nezreloj hematopoetskoj matičnoj stanici koja ima sposobnost samoobnavljanja. Ta pogonska mutacija, koja tipično zahvaća gene SF-a ili ER-a, osigurava dominaciju i klonsku ekspanziju stanici u kojoj nastaje. Zbog prednosti u rastu klon može postati dominantan u tijelu. Na kraju, sve hematopoetske stanice potječu od njega i sadržavaju iste temeljne pogonske mutacije, kao i iste usputne mutacije.[8]

Razvoj kliničke bolesti može i ne mora nalagati dodatne, suradničke mutacije, a uzrokovan je abnormalnom proliferacijom, diferencijacijom i/ili defektnom maturacijom klonskih hematopoetskih progenitora i prekursora i/ili prekomjernom apoptozom. To vodi u displaziju, neefektivnu hematopoezu i periferne citopenije. Međutim, određene kombinacije dodatno mutiranih gena mogu čak rezultirati leukocitozom i trombocitozom.

Stjecanje supklonskih pogonskih mutacija, najčešće u genima zaduženima za modifikaciju kromatina, regulaciju transkripcije i stanično signaliziranje, vodi do subpopulacija matičnih stanica s još jače oštećenim diferencijacijsko-maturacijskim kapacitetom. Rezultat toga jest progresivni porast nezrelih stanica, blasta, u koštanoj srži i perifernoj krvi. To stanje nije monoklonsko u užem smislu riječi, prije je mozaično, sastavljeno od različitih klonova/genoma s različitim setovima somatskih mutacija.[8]

Koji je biološki učinak najučestalijih genskih grešaka u MDS-u?

Sinteza bjelančevina presudan je, vrlo složeno reguliran biološki proces. Greške u tom procesu mogu rezultirati produktima koji su kvalitativno i kvantitativno različiti od potrebnih. Mutacije i defekti koji se javljaju rano u MDS-u zahvaćaju upravo temeljne segmente biosinteze bjelančevina – transkripciju, translaciju i sintezu.

Geni ER-a modificiraju DNK i histone pri transkripciji, a njihove mutacije dovode do hipermetilacije gena koji su ključni za regulaciju staničnog ciklusa, apoptozu i tumorsku supresiju, što rezultira utišavanjem njihove ekspresije.[8,9]

Transkript gena, odnosno glasnički RNK (mRNK) koji napušta jezgru podliježe modifikacijama, uključujući izrezivanje nekodirajućih regija. Kodirajuće regije ponovo se spajaju i tvore zreli mRNK. Te procese reguliraju geni SF-a, a njihove mutacije rezultiraju aberantnim spajanjem kodirajućih dijelova i, posljedično, raznim, funkcionalno različitim varijantama zrelog mRNK.[9] Biološki mehanizmi koji povezuju te mutacije SF-a s transformacijom stanica i leukemogenezom nepoznati su.[7]

U fazi translacije zreli mRNK dekodira na ribosomima da bi se sintetizirao odgovarajući protein. Ribosomski proteini zajedno s ribosomskim RNK (rRNK) čine ribosome. U čestoj kromosomskoj grešci, del (5q), zbog haploinsuficijencije gena za ribosomski protein S14 (*RPS14*) dolazi do aberantne biogeneze ribosoma.[10,11]

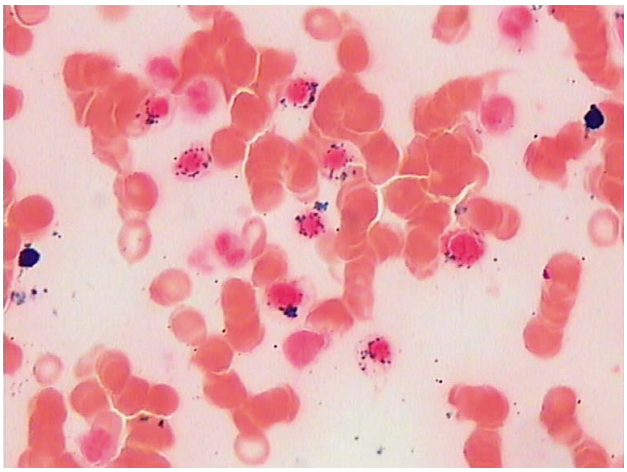
Nameće se pitanje je li moguće povući poveznicu između mutiranih gena – genotipa i vidljivog efekta njegova izražaja – fenotipa, odnosno morfoloških obilježja mijelodisplazije, diseritropoeze, disgranulopoeze i distrombopoeze. Nažalost, taj odnos najčešće nije pravocrtan. Iste genske lezije mogu imati potpuno različite fenotipove, a isti fenotip može biti produkt mutacija različitih gena.[12]

Za razumijevanje patogenetskih mehanizama koji dovode do određenog fenotipa nije dovoljno poznavati primarnu sekvenciju gena, već i njegovu funkciju. Iako je danas sekvenciran cjelokupni ljudski genom, funkcija mnogih gena i dalje je nepoznata.[9] Intenzivan znanstveni rad posljednjih godina rezultirao je otkrićima koja povezuju neka dobro poznata morfološka obilježja mijelodisplazije s određenim genskim greškama.

Mutacija SF3B1

Jedna od morfoloških značajka diseritropoeze jest stvaranje prstenastih (engl. *ring*) sideroblasta. Oni su prekursori eritrocita s abnormalnim metabolizmom staničnog željeza. Normalno se u koštanoj srži nalazi 20 – 60% sideroblasta, eritroblasta u kojima se citokemijskim bojenjem za dokazivanje željeza prikažu 1 – 2 sitna, plava zrnca u citoplazmi. Ta su zrnca endosomi u kojima se nalazi višak željeza koje nije iskorišteno za sintezu hema, tzv. siderosomi ili citosolni feritin. Prstenasti sideroblasti (slika 1.) imaju najmanje 5 siderotičnih granula koje zauzimaju najmanje trećinu opsega jezgre,[13] a željezo im je, za razliku od normalnih sideroblasta, akumulirano u mitohondrijima kao tzv. mitohondrijski feritin.

Danas se zna da se svakako najčešća mutacija gena SF-a, mutacija *SF3B1*, može povezati s nastankom prstenastih sideroblasta. Ta je povezanost veoma jaka – mutacija ima pozitivnu prediktivnu vrijednost od 97,7% za fenotip. Nedostatak prstenastih sideroblasta



Slika 1. Prstenasti sideroblasti, prekursori eritrocita s abnormalnom distribucijom željeza u citoplazmi (razmaz koštane srži, citokemijsko bojenje na željezo, × 1000)

Figure 1. Ring sideroblasts, erythrocyte precursors with abnormal cytoplasmic iron distribution (Bone marrow smear, iron stain, × 1000)

ima negativnu prediktivnu vrijednost od 97,8% za mutaciju *SF3B1*.[7,14]

Nejasno je na koji način mutirani gen *SF3B1* uzrokuje stvaranje prstenastog sideroblasta. Taj defekt očito proizvodi abnormalnu ekspresiju gena uključenih u sintezu hemoglobina i transport željeza.[15] U tijeku su istraživanja, a kandidat je *ABCB7*, gen s reduciranom ekspresijom u bolesnika koji imaju ≥ 15% prstenastih sideroblasta. Mutirani *SF3B1* rezultira reduciranom transkripcijom i abnormalnim izrezivanjem *ABCB7*, gena koji je prijeko potreban za procesiranje mitohondrijskog željeza.[16] Mitohondrij je organela odgovorna za staničnu energiju, ali i za transformaciju željeza u stanično iskoristivi oblik (engl. *iron-sulfur cluster* – ISC). Nagomilavanje željeza u mitohondrijima dovodi do poremećaja metabolizma željeza, do disfunkcije mitohondrija (smanjena redukcija željeza i stvaranje ISC-a nužnih za sintezu hema), oksidativnog oštećenja i povećane apoptoze.[16]

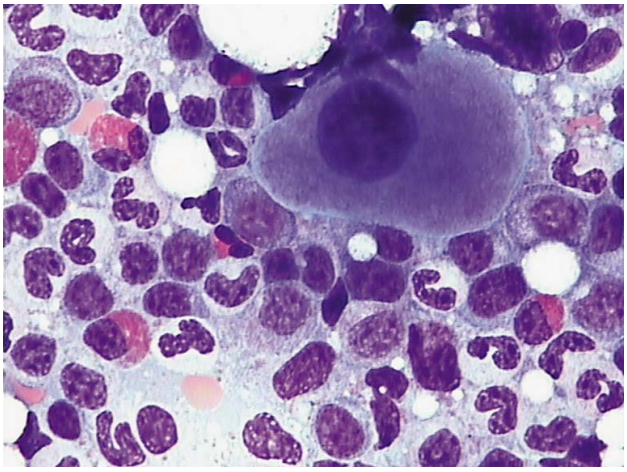
Postotak prstenastih sideroblasta u koštanoj srži pacijenata s MDS-om znatno varira, od manje od 20% do više od 90% i svakako ovisi o veličini mutiranog klona, ali to ne objašnjava potpuno takvu varijabilnost. Fenotip vjerojatno ovisi i o drugim, još nepoznatim čimbenicima.[14]

Rane temeljne, pokretačke mutacije gena SF-a i ER-a uvjetuju put klonske evolucije zbog ograničenja kooperativnosti supklonskih genskih lezija. Na primjer, uz mutirani *SF3B1*, dodatna mutacija gena za enzim iz porodice tirozin kinaza, Janusove kinaze 2 (*JAK2*) ili trombopoetinskog receptora (*MPL*), dovodi do trombocitoze i novog fenotipa – mijelodisplastičnog sin-

droma s prstenastim sideroblastima i trombocitozom (MDS-RS-T).[17]

Delecija dugog kraka kromosoma 5

Izolirana delecija 5q dobro je definiran klinički sindrom makrocitne anemije, s trombocitozom ili bez nje, morfološki karakteriziran krupnim, hipolobuliranim megakariocitima, bez množenja blasta i često hipoplastičnom eritropoezom[1] (slika 2.). Hipoplastična eritropoeza još je jedna morfološka pojava koja se može pokušati razjasniti na temelju današnjih saznanja.



Slika 2. Karakteristična morfološka slika sindroma 5q-, eritroblastopenija i megakariocit s krupnom, hipolobuliranom jezgrom (razmaz koštane srži, MGG, × 1000)

Figure 2. Characteristic morphology of 5q- syndrome, erythroblastopenia and large, hypolobulated megakaryocyte (Bone marrow smear, MGG, × 1000)

Gubitkom dugog kraka kromosoma 5 dolazi do gubitka genskog materijala smještenog u tom području. Neke regije kromosoma 5 gube se češće od drugih (npr., 5q32-33). To su tzv. CDR-i (engl. *commonly deleted regions*).[18] Iz tog se područja izgubi niz gena, ali vjerojatno je funkcija većine njih održana zbog prisutnosti drugoga, zdravog kromosoma. Ako su za funkciju potrebna oba alela, gubitkom ili inaktivacijom gena na jednom kromosomu dolazi do haploinsuficijencije. Danas se smatra da je haploinsuficijencija gena *RPS14* patogenetska osnova inefektivne eritropoeze i anemije u sindromu 5q-,[10] a haploinsuficijencija gena miRNK (*miR-145* i *miR-146a*) odgovorna za poremećaj u megakariopoezi i trombocitozu koja je katkad također obilježje ovog sindroma.[11]

RPS14 nuždan je u stvaranju podjedinice ribosoma 40S te radi haploinsuficijencije tog gena dolazi do aberantne biogeneze ribosoma i smanjenja ukupne sintetske aktivnosti hematopoetskih matičnih stanica.[19] Osim toga, smatra se da dolazi do aktivacije p53, što vodi do povećane apoptoze i izolirane inefektivne eritropoeze. Analogni mehanizmi supresije sazrijevanja eritropoeze dokazani su u nasljednim oblicima izolirane aplazije crvene loze (engl. *pure red cell aplasia* – PRCA). PRCA je rijetko stanje gdje maturacijski arest nastupa u ranoj fazi eritropoeze. U stečenoj je formi idiopatska ili sekundarna zbog parvovirusne infekcije, nekih lijekova, imunosnih poremećaja ili neoplazije. U kongenitalnom obliku PRCA-e, Diamond-Blackfanovoj anemiji (DBA), kod većine bolesnika dokazani su defekti gena koji kodiraju ribosomske proteine, najčešće haploinsuficijencija RPS19. Zbog aberantne biogeneze ribosoma DBA se smatra ribosomopatijom, a analogno tomu i sindrom 5q-, za koji drže da je stečeni oblik DBA.[20]

Još nije sasvim jasno zašto poremećena sinteza ribosoma pogađa uglavnom eritropoezu. Pretpostavlja se da je vrlo osjetljiva na aktivaciju tumorskog supresora p53, staničnog mehanizma zaštite od stresa, uključujući oštećenje DNK. Efekt p53 ovisi o vrsti zahvaćenog RP-a (RPS19 djeluje uglavnom na proliferaciju i stanični arest, drugi na diferencijaciju i apoptozu).[21]

Alternativna hipoteza o selektivnoj osjetljivosti eritropoeze govori o neravnoteži stvaranja hema i globina. Eritroidni progenitori imaju sposobnost brze proliferacije koja traži visoku razinu aktivnosti ribosoma. Pogođene stanice možda ne mogu održavati traženu razinu sinteze globina, što dovodi do relativnog ekscesa slobodnog hema, toksičnog za stanice.[22]

Zanimljivo je da se haploinsuficijencija *RPS14* može naći i u mnogih bolesnika s MDS-om koji nemaju kromosomsku aberaciju 5q-, vjerojatno zato što delecija toga gena može postojati neovisno o oštećenju cijelog kromosoma.[23]

Zaključak

Na kraju treba naglasiti da nas poznavanje mutiranih gena i njihove funkcije približava razumijevanju bioloških mehanizama u nastanku MDS-a, katkad i razumijevanju njegova fenotipa, ali valja imati na umu da molekularna obilježja nisu dijagnostička za MDS i moraju se tumačiti samo u odgovarajućem kliničkom i morfološkom kontekstu. Stoga je morfologija, iako subjektivna, i dalje temelj dijagnostike MDS-a.

LITERATURA

1. *Swerdlow SH, Campo E, Harris NL i sur.* (ur.). Myelodysplastic syndromes. U: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4. izd. Lyon: IARC Press; 2008, str. 87–108.
2. *Tefferi A, Vardiman JW.* Myelodysplastic syndromes. N Engl J Med 2009;361:1872–85.
3. *Arber DA, Orazi A, Hasserjian R i sur.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016;127:2391–405.

4. *Natelson EA, Pyatt D.* Acquired myelodysplasia or myelodysplastic syndrome: Clearing the fog. Adv Hematol 2013;2013: 309637. DOI: 10.1155/2013/309637.
5. *Bahrens A, van Deursen JM, Rudolph KL, Schumacher B.* Impact of genomic damage and ageing on stem cell function. Nat Cell Biol 2014;16:201–7.
6. *Nybakken GE, Bagg A.* The genetic basis and expanding role of molecular analysis in the diagnosis, prognosis and therapeutic design for myelodysplastic syndromes. J Mol Diagn 2014;16:145–58.
7. *Damm F, Kosmider O, Gelsi-Boyer V i sur.* Mutations affecting mRNA splicing define distinct clinical phenotypes and correlate with patient outcome in myelodisplastic syndromes. Blood 2012;119:3211–8.
8. *Cazzola M, Della Porta MG, Malcovati L.* The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. Blood 2013;122: 4021–34.
9. *Guttmacher AE, Collins FS.* Genomic medicine - a primer. N Engl J Med 2002;347:1512–20.
10. *Ebert BL, Pretz J, Bosco J i sur.* Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. Nature 2008; 451:335–9.
11. *Boultwood J, Pellagatti A, McKenzie AN, Wainscoat JS.* Advances in the 5q- syndrome. Blood 2010;116:5803–11.
12. *Prasun P, Pradhan M, Agarwal S.* One gene, many phenotypes. J Postgrad Med 2007;53:257–61.
13. *Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J i sur.* Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. Haematologica 2008;93(11):1712–7.
14. *Cazzola M, Rossi M, Malcovati L.* Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. Blood 2013;121:260–9.
15. *Conte S, Katayama S, Vesterlund L i sur.* Aberrant splicing of genes involved in haemoglobin synthesis and impaired terminal erythroid maturation in SF3B1 mutated refractory anaemia with ring sideroblasts. Br J Haematol 2015;171(4): 478–90.
16. *Nikpour M, Scharenberg C, Liu A i sur.* The transporter ABCB7 is a mediator of the phenotype of acquired refractory anemia with ring sideroblasts. Leukemia 2013;27(4):889–96.
17. *Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L i sur.* Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. Blood 2013;122(22):3616–27.
18. *Boultwood J, Fidler C, Strickson AJ i sur.* Narrowing and genomic annotation of the commonly deleted region of the 5q- syndrome. Blood 2002;99:4638–41.
19. *Pellagatti A, Hellstrom-Lindberg E, Giagounidis A i sur.* Haploinsufficiency of RPS14 in 5q- syndrome is associated with deregulation of ribosomal- and translation-related genes. Br J Haematol 2008;142(1):57–64.
20. *Sjögren SE, Flygare J.* Progress towards mechanism-based treatment for Diamond-Blackfan anemia. Sci W J 2012;2012: 184362. DOI: 10.1100/2012/184362.
21. *Dutt S, Narla A, Lin K i sur.* Haploinsufficiency for ribosomal protein genes causes selective activation of p53 in human erythroid progenitor cells. Blood 2011;117:2567–76.
22. *Narla A, Ebert BL.* Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. Blood 2010;115:3196–205.
23. *Czibere A, Bruns I, Junge B i sur.* Low RPS14 expression is common in myelodysplastic syndromes without 5q- aberration and defines a subgroup of patients with prolonged survival. Hematologica 2009;94(10):1453–5.

Vijest | News

Hrvatsko društvo za Alzheimerovu bolest
i psihijatriju starije životne dobi HLZ-a

organizira

HRVATSKI KONGRES O ALZHEIMEROVOJ BOLESTI
s međunarodnim sudjelovanjem,
CROCAD-20

Supetar na otoku Braču, Waterman Svpetrvs Resort,
14. – 17. listopada 2020.

Informacije: BTravel, d.o.o. Zagreb,
Kontakt osoba: Goran Grbić, mob. 099 4926 679, goran.grbic@btravel.pro
www.alzheimer-croatia2020.com

Liječ Vjesn 2019;141:214–219
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-27

Pregled | Review

Protočna citometrija u mijelodisplastičnom sindromu. Korak naprijed

Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndrome. Step forward.

Zoran Šiftar✉

Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, Zagreb

Deskriptori
MIJELODISPLASTIČNI SINDROMI – dijagnoza, imunologija; PROTOČNA CITOMETRIJA – metode, standardi; IMUNOFENOTIPIZACIJA – metode; STANICE KOŠTANE SRŽI – patologija; PROGNOZA

SAŽETAK. Mijelodisplastični sindrom (MDS) heterogena je skupina klonskih bolesti podrijetlom iz promijenjenih (malignih) hematopoetskih matičnih stanica. Klinički se prikazuje citopenijom u perifernoj krvi, displastičnim promjenama u jednoj ili više staničnih linija u koštanoj srži i povišenim rizikom od razvoja akutne mijeloične leukemije. Stečeni kromosomski poremećaji nađeni su u 40 – 50% pacijenata s MDS-om. Prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije, dijagnoza MDS-a zasniva se na morfološkoj procjeni displastičnih promjena, nađenom broju blasta, nalazu prstenastih sideroblasta u koštanoj srži i utvrđenim kromosomskim promjenama. Multiparametrijska ili polikromatska analiza protočnom citometrijom (engl. *Multiparameter Flow Cytometric Analysis* – MFC), iako inicijalno uključena kao opcionalna tehnika, postignutim napretkom posljednjih godina u imunofenotipizaciji hematopoetskih progenitornih stanica i zrelih stanica displastične koštane srži dobiva ravnopravnu ulogu u dijagnostici i prognozi mijelodisplastičnog sindroma.

Descriptors
MYELODYSPLASTIC SYNDROMES – diagnosis, immunology; FLOW CYTOMETRY – methods, standards; IMMUNOPHENOTYPING – mthods; BONE MARROW CELLS – pathology; PROGNOSIS

SUMMARY. Myelodysplastic syndrome (MDS) represents a heterogeneous group of clonal diseases originating from altered (malignant) hematopoietic stem cells. Clinically, it manifests as cytopenia in peripheral blood, dysplastic changes in one or more cell lines in bone marrow and increased risk of evolution to acute myeloid leukemia (AML). Acquired chromosomal aberrations are detected in 40-50% of MDS patients. According to WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Lion 2008), MDS diagnosis is based on the morphological interpretation of found dysplastic changes, the number of blasts, the presence of ring sideroblasts in bone marrow and the established cytogenetic abnormalities. The progress made in recent years in immunophenotyping of hematopoietic progenitor cells and mature cells of dysplastic bone marrow gives to multiparameter flow cytometric analysis (MFC), although initially included as an optional technique, an opportunity to become a standard part of the integrated MDS diagnosis and prognosis.

Mijelodisplastični sindrom (engl. *Myelodysplastic syndrome* – MDS) heterogena je skupina poremećaja hematopoeze obilježena različitim tipovima citopenije: anemijom, leukopenijom, trombocitopenijom. Riječ je o klonskoj bolesti matične stanice koja pokazuje smanjenu sposobnost diferencijacije i samoobnove.[1] U perifernoj se krvi posljedično pojavljuje citopenija. Klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije iz 2008. utemeljena je na morfološkim, kliničkim i genskim značajkama, a revidirana klasifikacija iz 2016. uzima kao dodatni dijagnostički kriterij nalaz imunofenotipskih karakteristika.[2,3,4] Hrvatske smjernice za liječenje i dijagnozu bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom iz 2017. i smjernice European LeukemiaNet-a iz 2013. uključuju imunofenotipizaciju i multiparametrijsku analizu protočnom citometrijom (engl. *Multiparameter Flow Cytometric Analysis* – MFC) kao integralni dijagnostički postupak pri postavljanju dijagnoze.[5,6] Iako je citomorfološka analiza periferne krvi i koštane srži ključna u prepoznavanju displazije granulocita i trombocita, obvezatne za postavljanje dijagnoze MDS-a, u slučajevima neodređene citomorfologije (odsutnost znatnije displazije ili povećanog broja blasta u koštanoj srži) i normalnoga citogenetičkog nalaza, analiza protočnom citometrijom uvelike pridonosi:

a) razlikovanju klonskih i neklonskih citopenija
b) otkrivanju aberantnog imunofenotipa u bolesnika kojima je citomorfološki utvrđena displazija barem jedne stanične linije (refraktorne citopenije s unilinijskom displazijom (engl. *Refractory cytopenia with unilineage dysplasia* – RCUD) i refraktorne anemije s prstenastim sideroblastima (engl. *Refractory anemia with ringed sideroblasts* – RARS))
c) otkrivanju aberantnog fenotipa nezrelih stanica mijeloidne loze i monocita (čak i kad je broj blasta < 5%).[7]

Učinkovitu dijagnostičku primjenu MFC-a omogućili su tehnološki napredak u području razvoja, proiz-

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Adresa za dopisivanje: Mr. sc. Zoran Šiftar, Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, I. Zajca 19, 10000 Zagreb;
e-mail: zoran.siftar@gmail.com

Primljeno 6. svibnja 2019., prihvaćeno 1. srpnja 2019.

vodnje i validacije novih protutijela za detekciju staničnih biljega i novih vrsta fluorokroma, kao i razvoj i dostupnost naprednih protočnih citometara. Današnji vrhunac tehnologije jesu protočni citometri za rutinsku kliničku primjenu, opremljeni s 2 – 3 lasera, a omogućuju polikromatski pristup u dijagnostici MDS-a. Takvi instrumenti pružaju mogućnost istodobne analize 8 i više fluorescentnih parametara, odnosno uporabu protutijela obilježenih fluorokromima za površinske ili unutarstanične biljege. Uz povećanu brzinu protoka (do 10.000 stanica u sekundi) omogućeno je mjerenje 0,5 – 1 milijuna stanica u vrlo kratkom vremenu. Također, zajedno s razvojem citometara i potrebnih reagensa razvijaju se i novi analitički programi (npr., INFINICYT, FlowJo, CytoBank) za obradu podataka mjerenja velikog broja kliničkih uzoraka koji omogućuju dobivanje pouzdanog interpretativnog izvješća u kratkom vremenu. Pritom nam ti programi omogućuju ne samo izvještaj o izmjerenim postotcima pozitivnosti za pojedine CD-antigene nego i opis ključnih fenotipskih odstupanja od normalnog usporedivih s bolesti.[8] Brojna istraživanja dokazala su fenotipske abnormalnosti ili odstupanja od normalnih stanica koštane srži povezane s MDS-om. Anomalije su dokazane u zrelim stanicama granulocitne i monocitne populacije, nezrelim (progenitornim) mijeloičnim stanicama ili B-limfocitima, kao i nukleiranim eritrocitima, no bez šire primjene u dijagnostici.[9–12]

Preduvjet za široku primjenu u kliničkoj praksi jesu standardizirane i međunarodno prihvaćene smjernice koje uključuju validaciju postojećih analiza i dogovor oko primijenjenih tehnika. Standardizacija je započela osnutkom Radne skupine europskih laboratorija za dijagnostiku mijelodisplazije protočnom citometrijom (*European LeukemiaNet Working Group*) 2008. godine i izradom smjernica od 2009. do 2012.[11] Smjernice uključuju uzorkovanje, rukovanje i obradu uzoraka te minimalne zahtjeve za analitičku obradu displazije koštane srži protočnom citometrijom radi detekcije progenitornih (nezrelih) stanica i stanica mijelomonocitne loze u pacijenata s poznatom ili suspektnom dijagnozom MDS-a, kao i onih eritroidne loze (tablica 1.).[13] Godine 2009. grupa je proširena pridruženim članicama-sudionicima s drugih kontinenata i mijenja ima u *International/European LeukemiaNet Working Group*. Europski konzorcij *EuroFlow* izdao je 2012. godine validirani standard kojim u tehničkom dijelu nadopunjuje protokol ELN-a definiranjem kombinacija protutijela na stanične biljege i fluorokroma kojima su obilježena protutijela.[14,15] Najnovije smjernice objavila je 2016. godine proširena grupa ELN-a pod nazivom *International/European LeukemiaNet Working Group for Flow Cytometry in MDS*.[16] Smjernice obuhvaćaju sve zanimljive stanične populacije s detaljnim opisom

Tablica 1. Preporuke ELN-a (*European LeukemiaNet*) za obradu uzoraka koštane srži protočnom citometrijom radi analize na displaziju[13]

Table 1. Reccomendation on processing of bone marrow samples for flow cytometric analysis of dysplasia, according to European LeukemiaNet (ELN), Leukemia 2012; 26: 1730 – 1741

Antikoagulans u uzorcima koštane srži: /Anticoagulant in bone marrow sample	heparin (alternativa: EDTA) /heparin (alternative: EDTA)
Temperatura pohrane: /Storage temperature	sobna temperatura /room temperature
Vrijeme za obradu /Processing time	< 24 sata /< 24 hours
Pretretman prije obilježavanja (opcionalno): /Pre-treatment before staining (optional)	liziranje eritrocita cijeloga ili dijela uzorka amonij klorid lizatorom (bez fiksativa) /bulk-lysis of erythrocytes by ammoniumchloride (without a fixative)
Pufer za pranje stanica (opcionalno): /Washing buffer (optional)	PBS s 0,5% goveđeg ili humanog albumina /PBS with 0.5% bovine or human serum albumin
Prezervacija stabilnih antigena: /Preservation of stable antigen	paraformaldehid fiksativ (0,5%-tni) /paraformaldehyde fixation (0.5%)
Ograda nezrelih mijeloidnih stanica: /Gating for immature myeloid cells	naziv „progenitori" bolji je nego „blasti" /called progenitors rather than blasts
Slijepljene stanice: /Doublets	moraju se isključiti iz analize na histogramu *fsc visina/fsc površina*/to be excluded by a fsc height/fsc area graph
Degranulirani granulociti: /Degranulated neutrophils	procjenjuju se usporedbom njihova SSC-a (lin. ili log. skala) prema SSC-u limfocita /assessed by comparing their SSC (in linear or logarithmic scale) to that of lymphocytes
Antigeni vezani na glikozil-fosfatidil-inozitol (npr., CD14, CD16, CD24): /Glycosyl-phospatidyl--inositol-anchored antigens (i.e., CD14, CD16, CD24)	njihov izražaj može biti promijenjen u PNH, ali to ne isključuje dijagnozu MDS-a /expression will be altered if PNH is present, but this does not impair MDS diagnosis

relevantnih fenotipskih anomalija, način bodovanja i interpretaciju rezultata (tablica 2.).

Analiza imunofenotipa odjeljka nezrelih mijeloičnih stanica obvezatna je i uključuje:

a) *definiciju i iskazivanje brojnosti progenitornih mijeloidnih stanica (mijeloblasta)*

Broj mijeloblasta (CD34+CD19-) iskazuje se prema ukupnom broju nukleiranih stanica koji uključuje eri-

Tablica 2. Preporuke za analizu na displaziju (prema *International/European LeukemiaNet Working Group for Flow Cytometry in MDS*)[16]

Table 2. Recommended minimal requirements to assess dysplasia by flow cytometry according to International/European LeukemiaNet Working Group for Flow Cytometry in MDS, Leukemia (2014);28 (9):1753–8

Populacija stanica koštane srži /Bone marrow subset	Bitni CD-biljezi /Relevant CD markers	Preporučena analiza /Recommended analyses	Pronađena aberacija /Aberrancy
Nezreli mijeloidni i monocitni progenitori /Immature myeloid and monocytic progenitors	SSC, CD45, CD34, CD117, CD38, HLA DR, CD13, CD33, CD15, CD11b, CD5, CD7, CD19, CD56	Postotak stanica u frakciji nukleiranih stanica /Percentage of cells in nucleated cell fraction	Povećani postotak /Increased percentage
		Izražaj CD45 /Expression of CD45	Gubitak ili slabiji/povećan /Lack of/decreased/increased
		Izražaj CD34 /Expression of CD34	Gubitak ili slabiji/povećan /Lack of/decreased/increased
		Izražaj CD117 /Expression of CD117	Homogeno slab ili prekomjeran izražaj /Homogenous under/overexpression
		Izražaj CD13 i CD33 /Expression of CD13 and CD33	Gubitak ili slabiji/povećan /Lack of/decreased/increase
		Izražaj HLA D/DR /Expression of HLA-DR	Gubitak ili slabiji/povećan /Lack of/increased expression
		Asinkroni izražaj CD11b, CD15 /Asynchronous expression of CD11b, CD15	Pozitivnost biljega zrelih stanica /Presence of mature markers
		Izražaj biljega CD5, CD7, CD19, CD56 /Expression of CD5, CD7, CD19, CD56	Pozitivnost biljega drugih loza /Presence of lineage infidelity markers
Zreli neutrofili /Maturing neutrophils	SSC, CD45 CD15, CD11b, CD16, CD10, CD13, CD33, CD36, CD64 CD34, CD117, HLA DR, CD5, CD7, CD56, CD19	Postotak stanica kao omjer prema limfocitima /Percentage of cells as ratio to lymphocytes	Smanjen /Decreased
		SSC kao omjer prema SSC-u limfocita /SSC as ratio vs SSC of lymphocytes	Smanjen /Decreased
		Odnos CD13 i CD11b /Relationship of CD13 and CD11b	Promijenjeni izgled /Altered pattern
		Odnos CD13 i CD16 /Relationship of CD13 and CD16	Promijenjeni izgled /Altered pattern
		Odnos CD15 i CD10 /Relationship of CD15 and CD10	Promijenjeni izgled /Altered pattern
Monociti /Monocytes	SSC, CD45, CD14, CD11b, CD13, CD33, CD64, CD16, CD36, CD34, HLA DR CD5, CD7 CD56 (CD303)	Postotak stanica / Percentage of cells	Smanjen/povećan / Decreased/increased
		Distribucija stadija zrelosti /Distribution of maturation stage	Pomak prema nezrelim /Shift towards immature
		Odnos HLA D/DR i CD11b /Relationship of HLA-DR and CD11b	Promijenjeni izgled /Altered pattern
		Odnos CD36 i CD14 /Relationship of CD36 and CD14	Promijenjeni izgled /Altered pattern
		Izražaj CD13 i CD33 /Expression of CD13 and CD33	(Homogeno) slab ili prekomjeran izražaj /(Homogenous) under/overexpression
		Izražaj CD56 /Expression of CD56	Pozitivnost biljega drugih loza /Presence of lineage infidelity marker
Progenitori B-limfocita /Progenitor B cells	CD45, CD19, CD34, CD10	Broj kao frakcija ukupnog broja stanica CD34+ u ogradi CD45/CD34/SSC u kombinaciji s CD10 ili CD19 /Enumeration as fraction of total CD34+ based on CD45/CD34/SSC in combination with CD10 or CD19	Smanjen ili nepostojeći /Decreased or absent
Eritrocitni odjeljak /Erythroid compartment	CD117, CD235a, CD36, CD71 (CD105)	Postotak nukleiranih eritriodnih stanica /Percentage of nucleated erythroid cells	Povećan/Increased
		Odnos CD71 i CD235a /Relationship CD71 and CD235a	Promijenjeni izgled/Altered pattern
		Izražaj CD71/Expression of CD71	Slab/Decreased
		Izražaj CD36/Expression of CD36	Slab/Decreased
		Postotak prekursora pozitivnih na CD117 /Percentage of CD117-positive precursors	Povećan/Increased

trocitne progenitore, progenitorne stanice, limfocite, monocite, granulocite (normalno: ≤ 2%). Uočene aberacije jesu: povećan broj, povećan SSC koji se dokazuje omjerom SSC-a mijeloblasta / SSC-a limfocita

b) *identifikaciju fenotipskih aberantnosti progenitornih mijelodnih stanica* s pomoću kojih se mogu razlikovati normalni progenitori od progenitora MDS-a. Najčešće prepoznate aberacije povezane su s abnormalnim intenzitetom ili gubitkom biljega: smanjen broj CD45 (normalan omjer CD45-limfocita / CD45-mijeloblasta: 4,5 – 7,4), smanjen broj CD117, smanjen broj CD38 (povećan udjel populacije CD34+CD38-/slabo+), smanjen HLA D/DR (povećanje populacije CD34+HLA DR-/slabo+); promijenjen izražaj biljega CD13 i CD33 (povećana proporcija populacije CD33+ CD13- i/ili CD13+CD33-), asinkrona prisutnost biljega zrelih oblika: CD11b ili CD15 (prisutnost populacije CD11b+CD34+, CD15+CD34+), izražaj biljega koji ne pripadaju mijeloičnoj lozi: CD5, CD7, CD19 ili CD56 na stanicama CD34+ ili CD117+.

Analiza imunofenotipa odjeljka zrelih neutrofila uključuje:

a) *definiciju i izražavanje brojnosti neutrofila*

Broj zrelih neutrofila iskazuje se kao omjer prema broju limfocita. Smanjen ili jednak postotak indikativan je za MDS. Dokazivanje hipogranulariteta provodi se s pomoću omjera SSC-a limfocita / SSC-a granulocita (normalno: > 6,0)

b) *identifikaciju fenotipskih aberantnosti zrelih neutrofila*

Displastični neutrofili mogu se prepoznati prema jačem ili slabijem izražaju dvaju ili više antigena. Najčešće fenotipske aberacije jesu: slabiji izražaj CD45 (određuje se omjerom CD45-granulocita / CD45-limfocita), redukcija pozitiviteta biljega CD13, CD33, CD11b, CD64, CD16, abnormalni obrazac prikaza CD13/CD11b i/ili CD13/CD16 te CD16/CD11b, gubitak ili minimalna razina CD10 i promijenjeni prikaz CD15/CD10, pojačan izražaj biljega CD36, povećana frekvencija stanica pozitivnih na CD117 (CD15+ CD117+), asinkroni izražaj CD34 (CD15+CD34+) te prisutnost izražaja limfocitnih biljega (CD5, CD7, CD19, CD56).

Analiza imunofenotipa monocitnog odjeljka uključuje:

a) *definiciju i izražavanje brojnosti monocita*

U kombinaciji s korisnim biljezima kao što su CD33, CD14, CD64 i CD36 mogu se lakše razlučiti od neutrofila i kvantificirati. Broj monocita iskazuje se kao postotak nukleiranih stanica. Smanjeni ili povećani postotak indikativan je za MDS. Uočeno je i smanjenje SSC-a monocita (dokazuje se omjerom SSC-a limfocita / SSC-a monocita)

b) *identifikaciju fenotipskih aberantnosti monocita*

Najčešće anomalije povezane su sa slabijim intenzitetom ili redukcijom pozitiviteta biljega CD45, CD13, CD33, CD14, CD64, HLA DR, CD11b, CD16, promjenom obrasca CD14/CD36, CD14/CD16, HLA DR/CD11b, abnormalnom distribucijom maturacijskog stadija (pomak prema nezrelijim oblicima), abnormalnim prikazom HLA DR/CD11b, CD36/CD14, smanjenjem pozitiviteta biljega CD13 i CD33 (povećan je udjel populacija CD13+CD33- i/ili CD33+ CD13-), prekomjernim izražajem nelinijskog biljega CD56 (> 20%), abnormalno pozitivnim izražajem biljega CD7, kao i asinkronim izražajem biljega CD34 (CD14+CD34+).

Analiza imunofenotipa odjeljka progenitornih limfocita uključuje:

a) *definiciju i izražavanje brojnosti B-progenitornih stanica* koje se identificiraju kao stanice CD34+CD19+ ili CD34+CD10+. Preporučuje se iskazivanje broja B-progenitora kao frakcije progenitora CD34+. Smanjeni postotak (< 5%) ili njihov potpuni izostanak često se nalazi u MDS-u.

Analiza imunofenotipa eritroidnog odjeljka uključuje:

a) *definiranje eritrocitnog odjeljka*

b) *identifikaciju fenotipskih aberantnosti*

Najčešće se uočavaju povećanje nukleiranih eritrocita u odnosu prema ukupnom broju nukleiranih stanica, povećanje broja eritrocitnih progenitora CD117+ (normalno do 3,5), heterogeni izražaj biljega CD36 i CD71 mjeren preko KV% distribucije (normalno za CD36 < 8,5%, za CD71 < 6,5%) ili njihov oslabljeni izražaj, abnormalni izgled populacije CD71/CD235a, CD36/CD235a.

Bodovni sustav analize fenotipa protočnom citometrijom (indeks FC-a; engl. Flowcytometry scoring system – FCSS)

Broj fenotipskih anomalija nađenih protočnom citometrijom u pojedinim staničnim odjeljcima, kategoriziran prema predlošku, naziva se indeks FC-a. Poput kliničkih prognostičkih sustava bodovanja, postoje i bodovni sustavi analize fenotipa protočnom citometrijom.

Do danas ih je poznato nekoliko.[16] Prvi validirani bodovni sustav protočnom citometrijom (FCSS) koji se temelji na broju nađenih anomalija objavili su Denise Wells i suradnici 2003. godine, a Loosdrecht sa suradnicima revidirao ga je 2008.[10,17] Sustav se temelji na analizi stanica mijelomonocitne loze (mijeloblasta, neutrofila i monocita). Prema nađenim anomalijama, nalazi se klasificiraju u 3 grupe: „normalan" s 0 ili 1 abnormalnosti, „umjeren" s 2 do 4 abnormalnosti nađene u jednoj od loza i „ozbiljan" s 2 ili 3 abnormalno-

sti nađene u dvije ili više loza. Indeks od 3 ili više potpuno razlučuje MDS od citopenija uzrokovanih drugim poremećajima. Indeks viši od 2 indikativan je za MDS i znatno korelira s IPSS-om. Dobivena je osjetljivost testa 75%-tna, a specifičnost 93,2%-tna. Ogata i suradnici objavili su 2006. godine jednostavan, orijentacijski indeks, tzv. Ogatin indeks koji se zasniva na određivanju broja i anomalija mijeloblasta (izražaj i intenzitet biljega CD45, CD11b, CD16, CD56), B-progenitornih stanica i izmjerenom omjeru SSC-a granulocita / SSC-a limfocita. Indeks ≥ 2 validiran je u istraživanju koje je obuhvatilo japanske i talijanske bolesnike s MDS-om niskog rizika i dobivenim rezultatima osjetljivosti od 80 i 86% te specifičnosti od 98 i 90%.[18,19] Godine 2014. Xu i suradnici validirali su svoj indeks FC-a koji se zasniva na analizi izražaja biljega CD34, CD19, CD38, CD117, CD7 CD15, CD11b, CD4 i CD56 na nezrelim stanicama koštane srži. Broj nađenih anomalija ≥ 2 povezan je s MDS-om. U studiji provedenoj na 180 pacijenata s citopenijom tako postavljen model polučio je osjetljivost od 89,4% i specifičnost od 96,5%.[20,21] Integrirani indeks FC-a (iFCS) ili tzv. ABC-zbroj koji su van de Loosdrecht i Theresia Westers preporučili 2013. godine, ujedinjuje fenotipski dokazanu displaziju na progenitornim mijeloidnim stanicama, na zrelim stanicama granulocitne i monocitne loze te onima eritrocitne loze. Odjeljci se zasebno verificiraju, s kriterijem od ≥ 2 anomalije kao pozitivnim nalazom. Skupni se nalaz klasificira kao A: rezultati ne upućuju na mijelodisplastične promjene; B: rezultati upozoravaju na ograničen broj promjena povezanih s MDS-om; C: rezultati su u skladu s MDS-om, pri čemu su dobivene 80%-tna osjetljivost i 95%-tna specifičnost.[22]

Prognostička vrijednost analize imunofenotipa protočnom citometrijom u MDS-u

Dokazano je da imunofenotipska analiza displazija i indeks FC-a dobro koreliraju s Međunarodnim prognostičkim bodovnim sustavom (engl. *International Prognostic Scoring System* – IPSS) iz 1997. i/ili Revidiranim međunarodnim prognostičkim bodovnim sustavom (engl. *Revised International Prognostic Scoring System* – IPSS-R) iz 2012. koji pouzdano određuju preživljenje bolesnika s MDS-om i rizik od pretvorbe MDS-a u AML. Što je veći broj mijeloidnih progenitora s abnormalnostima, to je indeks FC-a viši. Visoki indeks povezan je s nepovoljnom dijagnozom, kao i s većom mogućnosti relapsa nakon alogene transplantacije.[16,21,23] Pri IPSS-u niskog rizika i IPSS-u int-1 veći broj aberacija povezan je s progresijom bolesti.[10] Nedavna studija Canan Alhan i suradnika pokazala je da bolesnici sa smanjenim SSC-om imaju relativno lošiju prognozu.[23] Druga abnormalnost povezana s lošijom prognozom jest pojačan izražaj CD117 u mijeloidnim progenitorima, što omogućava preživljavanje zloćudnog klona. S druge strane, bolesnici sa slabijim izražajem CD13 u zrelim monocitima pokazuju bolju prognozu. Niži indeks uglavnom je nađen u oboljelih od MDS-a s displazijom jedne loze (MDS-SLD) i MDS-a s prstenastim sideroblastima (MDS-RS) te u bolesnika s neklasificiranim MDS-om (MDS-U).[24]

Zaključak

Imunofenotipizacija protočnom citometrijom u dijagnostici MDS-a može pružiti dodatne važne informacije koje nisu dobivene morfološkim nalazom, citogenetikom ili testovima molekularne dijagnostike. Jedan od njezinih glavnih nedostataka jest i dalje nedovoljno visoka pozitivna prediktivna vrijednost kao posljedica nepostojanja specifičnog biljega ili fenotipa, što smanjuje dijagnostički potencijal ako se primjenjuje kao zasebna tehnika. Nalaz MFC-a trebao bi biti integriran u cjelokupno dijagnostičko izvješće, zajedno s citomorfološkim nalazom venske krvi i koštane srži te histopatološkim, citogenetičkim i/ili molekularnim nalazima, pri čemu bi trebao sadržavati lako razumljiv komentar jesu li rezultati u skladu s MDS-om, pokazuju li samo ograničen broj promjena povezanih s MDS-om ili ne prikazuju njegove značajke.

LITERATURA

1. *Cazzola M, Malcovati L.* Myelodysplastic syndromes – coping with ineffective hematopoiesis. N Engl J Med 2005;352(6): 536–8.
2. *Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (ur.).* World Health Organization Classification of Tumours: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Fourth Edition Lyon, France: IARC Press; 2008.
3. *Swerdlow SH, Campo E, Harris NL i sur. (ur.).* World Health Organization Classification of Tumours. Vol 2. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Rev. 4. izd. Lyon: IARC Press; 2016.
4. *Arber DA, Orazi A, Hasserjian R.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016;127(20):2391–405.
5. *Gredelj Šimec Nj, Kaić G, Škrtić A i sur.* Smjernice za dijagnozu i liječenje bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom. Liječ Vjesn 2017;139:1–11.
6. *Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D i sur.* Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. Blood 2013;122(17):2943–64.
7. *Aanei CM, Picot T, Tavernier E, Guyotat D, Campos Catafal L.* Diagnostic Utility of Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes. Front Oncol 2016;(6):161.
8. *Kárai B, Szánthó E, Kappelmayer J, Hevessy Z.* Flow Cytometry in the Diagnosis of Myelodysplastic Syndromes. EJIFCC 2013;23(4):109–16.
9. *Della Porta MG, Malcovati L, Invernizzi R i sur.* Flow cytometry evaluation of erythroid dysplasia in patients with myelodysplastic syndrome. Leukemia 2006;20:549–55.

10. *van de Loosdrecht AA, Westers TM, Westra AH, Dräger AM, van der Velden VH, Ossenkoppele GJ.* Identification of distinct prognostic subgroups in low- and intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes by flow cytometry. Blood 2008;111: 1067–77.
11. *van de Loosdrecht AA, Alhan C, Béné MC i sur.* Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. Haematologica 2009;94:1124–34.
12. *Kern W, Haferlach C, Schnittger S, Haferlach T.* Clinical utility of multiparameter flow cytometry in the diagnosis of 1013 patients with suspected myelodysplastic syndrome: correlation to cytomorphology, cytogenetics, and clinical data. Cancer 2010;116:4549–63.
13. *Westers TM, Ireland R, Kern W i sur.* Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group. Leukemia 2012;26(7):1730–41.
14. *van Dongen JJ, Lhermitte L, Böttcher S i sur.*; EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. Leukemia 2012;26(9):1908–75.
15. *Kalina T, Flores-Montero J, van der Velden VH i sur.*; EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708). EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. Leukemia 2012;26(9): 1986–2010.
16. *Porwit A, van de Loosdrecht AA, Bettelheim P i sur.* Revisiting guidelines for integration of flow cytometry results in the WHO classification of myelodysplastic syndromes-proposal from the International/European LeukemiaNet Working Group for Flow Cytometry in MDS. Leukemia 2014;28(9): 1793–8.
17. *Wells DA, Benesch M, Loken MR i sur.* Myeloid and monocytic dyspoiesis as determined by flow cytometric scoring in myelodysplastic syndrome correlates with the IPSS and with outcome after hematopoietic stem cell transplantation. Blood 2003;102:394–403.
18. *Ogata K, Kishikawa Y, Satoh C, Tamura H, Dan K, Hayashi A.* Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34ţ cells in low-grade myelodysplastic syndromes. Blood 2006;108:1037–44.
19. *Ogata K, Della Porta MG, Malcovati L i sur.* Diagnostic utility of flow cytometry in low-grade myelodysplastic syndromes: a prospective validation study. Haematologica 2009;94: 1066–74.
20. *Xu F, Li X, Wu L, He Q, Zhang Z, Chang C.* Flow cytometric scoring system (FCMSS) assisted diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS) and the biological significance of FCMSS-based immunophenotypes. Br J Haematol 2010;149: 587–97.
21. *Xu F, Li X, Chang C-K i sur.* Establishment and Validation of an Updated Diagnostic FCM Scoring System Based on Pooled Immunophenotyping in CD34+ Blasts and Its Clinical Significance for Myelodysplastic Syndromes. PLoS ONE 2014;9 (2):e88706.
22. *van de Loosdrecht AA, Westers TM.* Cutting Edge: Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes. J Natl Compr Canc Netw 2013;11:892–902.
23. *Bento LC, Correia RP, Pitangueiras Mangueira CL i sur.* The Use of Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes: A Review. Front Oncol 7:270.
24. *Alhan C, Westers TM, Cremers EM i sur.* The myelodysplastic syndromes flow cytometric score: a three- parameter prognostic flow cytometric scoring system. Leukemia 2016;30 (3):658–65.

Vijest | News

Hrvatsko vertebrološko društvo HLZ-a
u suradnji s
Klinikom za reumatologiju, fizikalnu medicinu i rehabilitaciju
i Klinikom za neurokirurgiju KBC Sestre milosrdnice

organiziraju

BIOLOŠKI I MEDICINSKI ASPEKTI DEGENERATIVNIH PROMJENA INTERVERTEBRALNOG DISKA

Knjižnica HAZU, Strossmayerov trg 14, Zagreb, 16. listopada 2019. s početkom u 9 h.

Voditelji simpozija: prof. dr. sc. Simeon Grazio i prof. dr. sc. Boris Božić
Kontakt osoba: Veronika Jurić, mob. 098-594281, e-mail: veronika.juric@moment.hr
Kotizacija: 100 kuna za članove HVD-a, 300 kuna za ostale
www.hvdsimp-2019.com

Liječ Vjesn 2019;141:220–225
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-28

Prikaz slučaja | Case report

Morfologija mijelodisplastičnih/mijeloproliferativnih neoplazma (MDS/MPN)

Morphology of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN)

Biljana Jelić Puškarić[1], Gordana Kaić[1], Marina Pažur[1], Mia Šunjić Stakor[1], Suzana Katalenić Simon[1], Inga Mandac Rogulj[2], Slobodanka Ostojić Kolonić[2,3]✉, Delfa Radić Krišto[2,4], Ika Kardum-Skelin[1,3]

[1] Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur, Zagreb
[2] Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur, Zagreb
[3] Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
[4] Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek

Deskriptori
MIJELODISPLASTIČNE-MIJELOPROLIFERATIVNE NEOPLAZME – dijagnoza, klasifikacija, patologija; KRONIČNA MIJELOMONOCITNA LEUKEMIJA – dijagnoza, patologija; JUVENILNA MIJELOMONOCITNA LEUKEMIJA – dijagnoza, patologija; ATIPIČNA KONIČNA MIJELOIČNA LEUKEMIJA, *BCR-ABL* NEGATIVNA – dijagnoza, patologija; TROMBOCITOZA; SIDEROBLASTIČNA ANEMIJA

SAŽETAK. Dijagnostička kategorija mijelodisplastične/mijeloproliferativne neoplazme (MDS/MPN) obuhvaća klonske hematopoetske neoplazme koje u vrijeme postavljanja dijagnoze istodobno pokazuju klinička, laboratorijska i/ili morfološka obilježja i mijelodisplastičnog sindroma (MDS) i mijeloproliferativne neoplazme (MPN). Citopenija i displazija jedne ili više mijeloidnih loza (obilježja MDS-a) mogu se vidjeti istodobno s leukocitozom, trombocitozom i/ili organomegalijom (obilježja koja su češće povezana s MPN-om). Bolesnici s prije dijagnosticiranim MPN-om, kod kojih se razviju mijelodisplastične promjene kao posljedica evolucije bolesti ili kemoterapije, ne ubrajaju se u ovu dijagnostičku kategoriju. Prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization* – WHO) iz 2008. godine te njezinoj reviziji iz 2016. godine, MDS/MPN obuhvaća pet entiteta: kroničnu mijelomonocitnu leukemiju (engl. *chronic myelomonocytic leukemia* – CMML), juvenilnu mijelomonocitnu leukemiju (engl. *juvenile myelomonocytic leukemia* – JMML), atipičnu kroničnu mijeloičnu leukemiju, *BCR-ABL1*$^-$ (engl. *atypical chronic myeloid leukemia* – aCML), MDS/MPN s prstenastim sideroblastima i trombocitozom (engl. *MDS/MPN with ring sideroblasts and thrombocytosis* – MDS/MPN-RS-T) i neklasificirani MDS/MPN (engl. *MDS/MPN, unclassifiable* – MDS/MPN, U).

Descriptors
MYELODYSPLATIC-MYELOPROLIFERATIVE DISEASES – classification, diagnosis, pathology; LEUKEMIA, MYELOMONOCYTIC, CHRONIC – diagnosis, pathology; LEUKEMIA, MYELOMONOCYTIC, JUVENILE – diagnosis, pathology; LEUKEMIA, MYELOID, CHRONIC, ATYPICAL, BCR-ABL NEGATIVE – diagnosis, pathology; THROMBOCITOSIS; ANEMIA, SIDEROBLASTIC

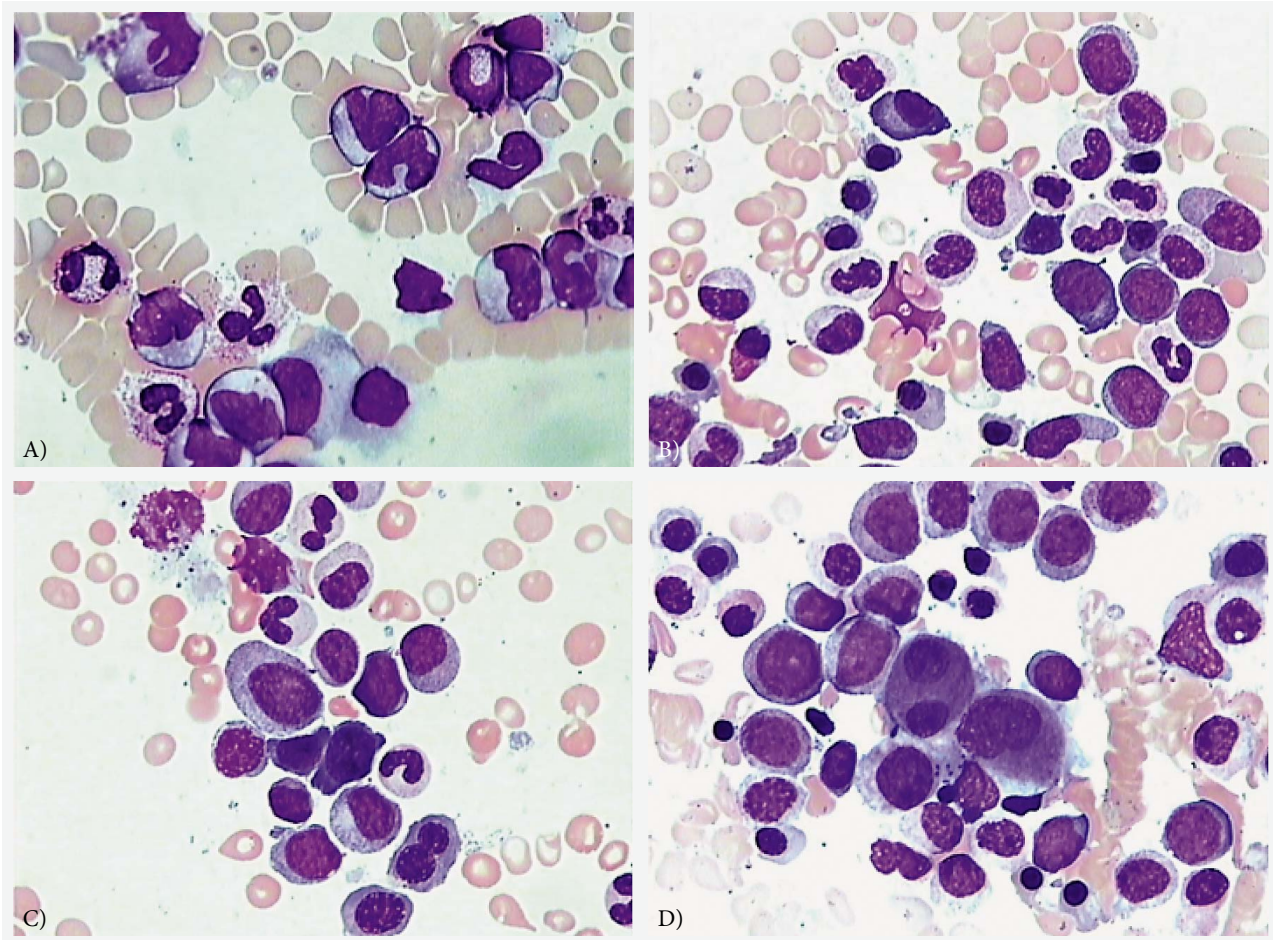
SUMMARY. Diagnostic category of MDS/MPN includes clonal hematopoietic neoplasms, which show the concomitant clinical, laboratory and/or morphologic features of both myelodysplastic syndrome (MDS) and myeloproliferative neoplasm (MPN) at the time of diagnosis. Cytopenia and dysplasia of one or more myeloid lineages (the MDS features) can be present accompanied with leukocytosis, thrombocytosis and/or organomegaly (all features more often related to MPN). Patients with a previous diagnosis of MPN who develop the myelodysplastic alterations secondary to disease evolution or chemotherapy are not assigned to this diagnostic category. According to the WHO (World Health Organization) classification from 2008 and the 2016 revision, the MDS/MPN category includes five entities as follows: CMML (chronic myelomonocytic leukemia), JMML (juvenile myelomonocytic leukemia), aCML (atypical chronic myeloid leukemia) *BCR-ABL1*$^-$, MDS/MPN-RS-T (MDS/MPN with ring sideroblasts and thrombocytosis) and MDS/MPN-U (MDS/MPN, unclassifiable).

Dijagnostička kategorija mijelodisplastične/mijeloproliferativne neoplazme (MDS/MPN) obuhvaća klonske hematopoetske neoplazme koje u vrijeme postavljanja dijagnoze istodobno pokazuju klinička, laboratorijska i/ili morfološka obilježja i mijelodisplastičnog sindroma (MDS) i mijeloproliferativne neoplazme (MPN). Obično su karakterizirane hipercelularnom koštanom srži zbog proliferacije jedne ili više mijeloidnih loza. Često je proliferacija jedne ili više mijeloidnih loza efektivna s posljedičnim porastom broja cirkulirajućih stanica. Istodobno, jedna ili više drugih linija mogu pokazivati neefektivnu proliferaciju s posljedičnom citopenijom. Postotak blasta u perifernoj krvi i koštanoj srži uvijek je < 20%. Bolesnici s prije dijagnosticiranim MPN-om kod kojih se razviju mijelodisplastične promjene kao posljedica evolucije bolesti ili kemoterapije ne ubrajaju se u ovu dijagnostičku kategoriju. Kromosom *Philadelphia* i fuzijski gen *BCR-ABL1* moraju biti negativni, a slučajevi s dokazanom preuredbom gena *PDGFRA*, *PDGFRB* ili *FGFR1* ili *PCM1-JAK2* fuzijskim genom izdvajaju se u posebnu kategoriju (to se posebice odnosi na slučajeve s eozinofilijom).[1–3]

Prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization* – WHO) iz 2008.

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prof. dr. sc. Slobodanka Ostojić Kolonić, Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur, I. Zajca 19, 10000 Zagreb;
e-mail: ostojić@net.hr

Primljeno 6. svibnja 2019., prihvaćeno 1. srpnja 2019.



Slika 1. A) Monocitoza u perifernoj krvi, B) Displastična granulopoeza u koštanoj srži, C) Displastična eritropoeza (megaloblastoidne promjene), D) Displastični megakariociti (MGG, × 1000)

Figure 1. A) Peripheral blood monocytosis, B) Dysgranulopoiesis in bone marrow, C) Dyserythropoiesis (megaloblastic changes), D) Dysmegakaryocytopoiesis (MGG, × 1000)

godine te njezinoj reviziji iz 2016. godine, MDS/MPN obuhvaća pet entiteta: kroničnu mijelomonocitnu leukemiju (engl. *chronic myelomonocytic leukemia* – CMML), juvenilnu mijelomonocitnu leukemiju (engl. *juvenile myelomonocytic leukemia* – JMML), atipičnu kroničnu mijeloičnu leukemiju, *BCR-ABL1*$^-$ (engl. *atypical chronic myeloid leukemia* – aCML, *BCR-ABL1*$^-$), MDS/MPN s prstenastim sideroblastima i trombocitozom (engl. *MDS/MPN with ring sideroblasts and thrombocytosis* – MDS/MPN-RS-T) i neklasificirani MDS/MPN (engl. *MDS/MPN, unclassifiable* – MDS/MPN, U).[1,3]

Kronična mijelomonocitna leukemija (CMML)

Kronična mijelomonocitna leukemija rijetka je klonska hematopoetska neoplazma starije dobi s incidencijom od oko 3/100.000 osoba starijih od 60 godina. Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze jest 65 – 75 godina.[1,4]

Monocitoza u perifernoj krvi glavno je obilježje CMML-a. Broj monocita mora biti ≥ 1×10^9/L, a najčešće iznosi od 2 do 5×10^9/L. Monociti čine ≥ 10% leukocita (slika 1. A). Morfologija monocita obično je uredna, ali se mogu naći i monociti s poremećajem granuliranosti citoplazme ili lobulacije jezgara. Blasti i promonociti mogu biti umnoženi u perifernoj krvi, ali njihov ukupni postotak mora biti manji od 20%.[1,3] Postotak blasta važan je prognostički čimbenik kod bolesnika s CMML-om. Prema klasifikaciji SZO-a iz 2008. godine, CMML se prema broju blasta dijelio u dvije kategorije, CMML-1 i CMML-2.[1] Međutim, noviji radovi pokazuju prognostičko značenje preciznijeg određivanja broja blasta pa revizija klasifikacije SZO-a iz 2016. godine uvodi novu kategoriju CMML-0 za slučajeve s < 2% blasta u perifernoj krvi te < 5% u koštanoj srži.[3] Kod CMML-1 postotak blasta u perifernoj krvi iznosi 2 – 4%, a u koštanoj srži 5 – 9%. Kod CMML-2 postotak blasta u perifernoj krvi jest 5 – 19%, a u koštanoj srži 10 – 19%. Bolesnici kod kojih se

nađu Auerovi štapići ubrajaju se u CMML-2 bez obzira na broj blasta.[3,5] Broj leukocita može biti normalan ili blago smanjen, ali je u oko polovice bolesnika prisutna leukocitoza kao rezultat monocitoze i neutrofilije. Neutrofilni prekursori obično čine < 10% leukocita. Disgranulopoeza (hiposegmentacija jezgara, hipogranuliranost citoplazma) prisutna je kod većine bolesnika, ali može biti manje izražena u bolesnika s leukocitozom nego u onih s normalnim ili smanjenim brojem leukocita. Često su prisutne blaga anemija i umjerena trombocitopenija. Koštana je srž kod većine bolesnika hipercelularna s umnoženom i morfološki displastičnom granulopoezom (slika 1. B). Monocitna proliferacija često je manje izražena u koštanoj srži nego u perifernoj krvi. Displastični granulociti i njihovi prekursori u hipercelularnoj koštanoj srži često se teško razlikuju od monocita i promonocita pa morfološku analizu treba upotpuniti citokemijskom i imunocitokemijskom obradom. Displastične promjene mogu biti izražene i na eritroidnim prekursorima (megaloblastoidne promjene, prstenasti sideroblasti) te na megakariocitima (mikromegakariociti, megakariociti s hipolobuliranim jezgrama) (slike 1. C i D).[1,4]

Klonske citogenetičke abnormalnosti nalaze se u 20 – 40% bolesnika s CMML-om. Najčešće su +8, -7/del(7q) i strukturalne abnormalnosti 12p. Molekularne su abnormalnosti češće i vide se u > 90% bolesnika. Najčešće su *TET2*, *AXL1*, *SRSF2*, *RAS*, *CBL* i *RUNX*. Kromosom *Philadelphia* i fuzijski gen *BCR-ABL1* moraju biti negativni. Bolesnici s dokazanom preuredbom gena *PDGFRA*, *PDGFRB* ili *FGFR1* ili *PCM1-JAK2* fuzijskim genom izdvajaju se u posebnu kategoriju (to se posebice odnosi na slučajeve s eozinofilijom).[6,7,8] Na tablici 1. navedeni su kriteriji za postavljanje dijagnoze CMML-a.[3]

Tablica 1. Dijagnostički kriteriji za CMML[3]
Table 1. Diagnostic criteria for CMML[3]

- Perzistentna monocitoza u perifernoj krvi (monociti ≥ 1 × 10^9/L, monociti ≥ 10% leukocita/*Persistent monocytosis in peripheral blood (monocytes ≥1 × 10^9/L, monocytes ≥10% of leukocytes)*
- Nisu ispunjeni kriteriji SZO-a za MPN /*Not fulfilling WHO criteria for MPN*
- Nije dokazana preuredba gena *PDGFRA*, *PDGFRB* ili *FGFR1* ili *PCM1-JAK2*/*No rearrangement of PDGFRA, PDGFRB, or FGFR1, or PCM1-JAK2*
- < 20% blasta u perifernoj krvi i koštanoj srži /*<20% blasts in the blood and bone marrow*
- Displazija u jednoj ili više mijeloidnih loza /*Dysplasia involving one or more myeloid lineages**

*Slučajevi s minimalnom displazijom ili bez izražene displazije ubrajaju se u CMML ako su ispunjeni ovi kriteriji: /*Cases with minimal or no myelodysplasia are included in CMML if the following criteria are met:*

- Stečena, klonska citogenetička ili molekularna abnormalnost ili /*An acquired, clonal cytogenetic or molecular genetic abnormality, or*
- Perzistentna monocitoza (najmanje 3 mjeseca) i /*Persistent monocytosis (at least 3 months) and*
- Isključeni drugi uzroci monocitoze /*Other causes of monocytosis should be excluded*

Bolesnici s CMML-om imaju lošu prognozu s medijanom preživljenja od 20 do 40 mjeseci. Progresija u akutnu mijeloičnu leukemiju događa se u 15 – 30% pacijenata.[1]

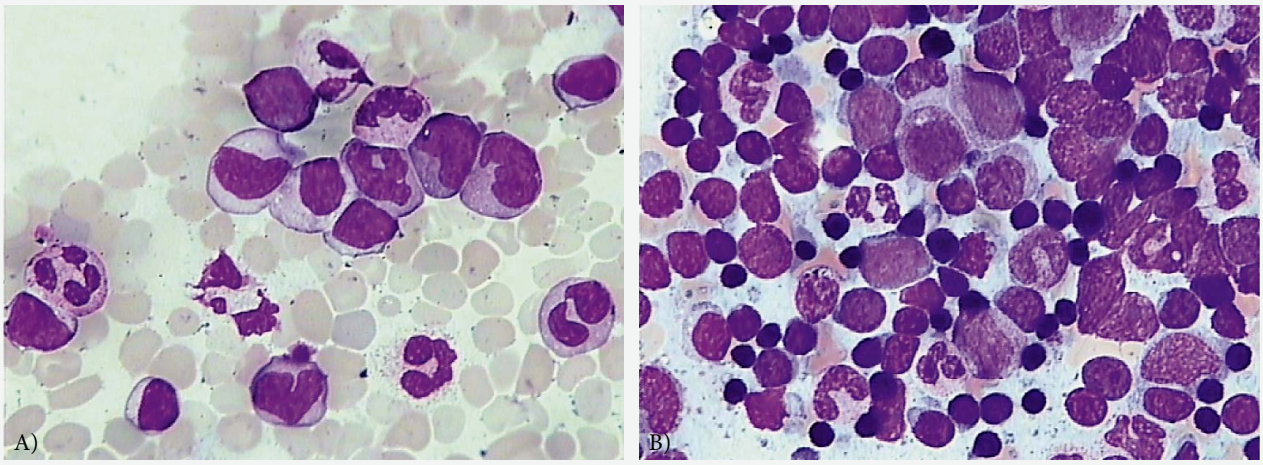
Juvenilna mijelomonocitna leukemija (JMML)

Juvenilna mijelomonocitna leukemija klonska je hematopoetska bolest dječje dobi karakterizirana proliferacijom stanica granulopoeze i monopoeze. Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze 2 je godine, a 75% slučajeva javlja se u djece mlađe od 3 godine. Incidencija je 1,3 na milijun djece u dobi od 0 do 14 godina. Dva puta češće javlja se u dječaka nego kod djevojčica. Oko 10% slučajeva javlja se u djece s kliničkom dijagnozom neurofibromatoze tipa 1 (NF1).[1,3]

Većina bolesnika prezentira se općim simptomima ili znakovima infekcije. Obično je izražena hepatosplenomegalija, a oko polovice bolesnika ima limfadenopatiju. Četvrtina bolesnika žali se na svrbež kože, a kod djece s NF1 mogu se vidjeti mrlje na koži *café au lait*. U velikog broja bolesnika, osobito onih s urednim kariogramom, nalazi se povećana sinteza fetalnog hemoglobina. Važno dijagnostičko obilježje JMML-a jest povećana osjetljivost *in vitro* mijeloidnih progenitorskih stanica na GM-CSF (engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*).[1,2]

U perifernoj krvi, koja je najvažniji uzorak u dijagnostici JMML-a, izražena je leukocitoza. Broj leukocita najčešće iznosi od 25 do 30 × 10^9/L, a rijetko prelazi 100 × 10^9/L. Leukocitoza je posljedica neutrofilije i monocitoze (slika 2. A). Broj monocita u perifernoj krvi mora biti ≥ 1 × 10^9/L. U razmazu periferne krvi mogu se vidjeti i neutrofilni prekursori te promonociti, a broj blasta, uključujući promonocite, mora biti < 20%. Uz leukocitozu obično su prisutne i trombocitopenija te makrocitna anemija. Koštana je srž hipercelularna s izraženom granulocitnom proliferacijom. U nekih bolesnika može se vidjeti predominantna eritroidna proliferacija. Monocitoza u koštanoj srži obično je manje izražena nego u perifernoj krvi, a monociti čine 5 – 10% stanica. Postotak blasta, uključujući promonocite, kao i u perifernoj je krvi < 20%. Broj megakariocita u koštanoj srži obično je smanjen. Displastične promjene kod većine su bolesnika blago izražene, najčešće na granulocitnoj i eritroidnoj lozi. Leukemijska infiltracija vrlo je česta, a najčešća su sijela jetra, slezena, limfni čvorovi, koža i pluća (slika 2. B).[1–3]

U oko 25% bolesnika nalazi se monosomija 7, oko 10% bolesnika ima druge citogenetičke abnormalnosti, a 65% normalan kariotip. Kromosom *Philadelphia*



Slika 2. A) Leukocitoza u perifernoj krvi zbog monocitoze te povećanog broja neutrofilnih granulocita i njihovih prekursora, B) Leukemijska infiltracija u punktatu limfnog čvora (MGG, × 1000)

Figure 2. A) Peripheral blood leukocytosis due to monocytosis and increased numbers of neutrophils and their precursors, B) Leukemic infiltration in the lymph node aspirate (MGG, × 1000)

Tablica 2. Dijagnostički kriteriji za JMML[3]

Table 2. Diagnostic criteria for JMML[3]

I. Klinička i hematološka obilježja (obvezatna sva 4 obilježja)/*Clinical and hematological characteristics (all 4 characteristics obligatory)*
- Monocitoza u perifernoj krvi, monociti ≥ 1×10^9/L /*Peripheral blood monocytosis, monocytes* ≥1×10^9/L
- < 20% blasta u perifernoj krvi i koštanoj srži /*<20% blasts in the blood and bone marrow*
- Splenomegalija/*Splenomegaly*
- Kromosom *Philadelphia* i fuzijski gen *BCR-ABL1* negativni /*No Philadelphia chromosome or BCR/ABL1 fusion gene*

II. Genetika (dovoljan 1 nalaz)/*Genetics (1 finding)*
- Mutacije (*PTPN11* ili *KRAS* ili *NRAS* ili *NF1* ili *CBL*) /*Mutation (PTPN11 or KRAS or NRAS or NF1 or CBL)*

III. Za pacijente s negativnom genetikom uz kriterije pod brojem I. moraju biti zadovoljeni ovi kriteriji:/*For patients with negative genetics, besides the criteria under I, the following criteria must be included:*
- Kromosomska abnormalnost ili ≥ 2 od ovih kriterija: /*Chromosomal abnormality or ≥2 of the following criteria:*
- Hemoglobin F povišen za dob/*Hemoglobin F increased for age*
- Nalaz nezrelih granulocita ili eritroidnih prekursora u perifernoj krvi/*Immature granulocytes or erythroid precursors in the peripheral blood*
- Povećana osjetljivost *in vitro* na GM-CSF /*GM-CSF hypersensitivity in vitro*
- Hiperfosforilacija STAT5/*Hyperphosphorylation of STAT5*

i fuzijski gen *BCR-ABL1* negativni su. Somatske ili germinativne mutacije komponenata signalnog puta RAS-RAF-MAPK (gena *NF1*, *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11* i *CBL*) nalaze se u više od 90% bolesnika.[1,2,8] Dijagnostički kriteriji za JMML sažeti su na tablici 2.[3]

JMML je agresivna bolest koja kod neliječene djece vrlo brzo završava smrtnim ishodom. Medijan preživljenja bez transplantacije koštane srži jest oko godinu dana. Glavni prediktori kraćeg preživljenja jesu malen broj trombocita, dob pri dijagnozi < 2 godine i visok fetalni hemoglobin. Najčešći je uzrok smrti zatajenje organa zbog leukemijske infiltracije.[1]

Atipična kronična mijeloična leukemija, *BCR-ABL1*-negativna (aCML, *BCR-ABL1*$^-$)

Atipična kronična mijeloična leukemija rijetka je hematološka neoplazma s izraženom leukocitozom u perifernoj krvi koja nastaje zbog umnožavanja displastičnih neutrofila i njihovih prekursora. Javlja se obično u starijoj dobi; medijan dobi pri postavljanju dijagnoze jesu sedmo i osmo desetljeće. Incidencija bolesti jest 1 – 2 oboljela od aCML-a na 100 bolesnika s CML-om *BCR-ABL1*-pozitivnim.[1,4]

U perifernoj krvi izražena je leukocitoza. Broj leukocita iznosi ≥ 13×10^9/L, a najčešće se kreće od 24 do 96×10^9/L. Umnoženi su neutrofilni granulociti i njihovi prekursori (promijelociti, mijelociti i metamijelociti) koji čine ≥ 10% leukocita. U perifernoj krvi obično je < 5% blasta. Postotak blasta mora biti < 20%. Glavno obilježje aCML-a izražena je displazija granulocitne loze. U razmazu periferne krvi mogu se vidjeti granulociti s poremećajem segmentacije jezgara (pseudo-Pelger-Huëtova anomalija) i s izraženom hipogranulacijom citoplazma. U perifernoj krvi mogu biti prisutne blaga apsolutna monocitoza i/ili bazofilija, ali monociti uvijek čine < 10% leukocita, a bazofili < 2% leukocita. Često su prisutne trombocitopenija i umjerena anemija. Koštana je srž hipercelularna s umnoženom i morfološki displastičnom granulopoezom. Blasti mogu biti umnoženi, ali ih je uvijek < 20%. Iako su displastične promjene najjače izražene na granulopoezi, kod većine bolesnika vidi se i displazija megakariocita, uključujući male megakariocite, mikromegakariocite i/ili megakariocite s hipolobuliranim ili nelo-

Tablica 3. Dijagnostički kriteriji za aCML, *BCR-ABL1*[−3]
Table 3. Diagnostic criteria for aCML, BCR-ABL1[−3]

- Leukocitoza u perifernoj krvi zbog umnožavanja neutrofila i njihovih prekursora s izraženom disgranulopoezom /*Peripheral blood leukocytosis due to increased numbers of neutrophils and their precursors with prominent dysgranulopoiesis*
- Neutrofilni prekursori (promijelociti, mijelociti, metamijelociti) čine ≥ 10% leukocita/*Neutrophil precursors (promyelocytes, myelocytes, metamyelocytes) ≥10% of leukocytes*
- Bazofili < 2% leukocita/*Basophils <2% of leukocytes*
- Monociti < 10% leukocita/*Monocytes <10% of leukocytes*
- Hipercelularna koštana srž s granulocitnom proliferacijom i izraženom disgranulopoezom/*Hypercellular bone marrow with granulocytic proliferation and prominent dysgranulopoiesis*
- < 20% blasta u perifernoj krvi i koštanoj srži /*<20% blasts in the blood and bone marrow*
- Nije dokazana preuredba gena *PDGFRA*, *PDGFRB* ili *FGFR1* ili *PCM1-JAK2*/*No rearrangement of PDGFRA, PDGFRB, or FGFR1, or PCM1-JAK2*
- Nisu ispunjeni kriteriji SZO-a za MPN /*Not fulfilling WHO criteria for MPN*

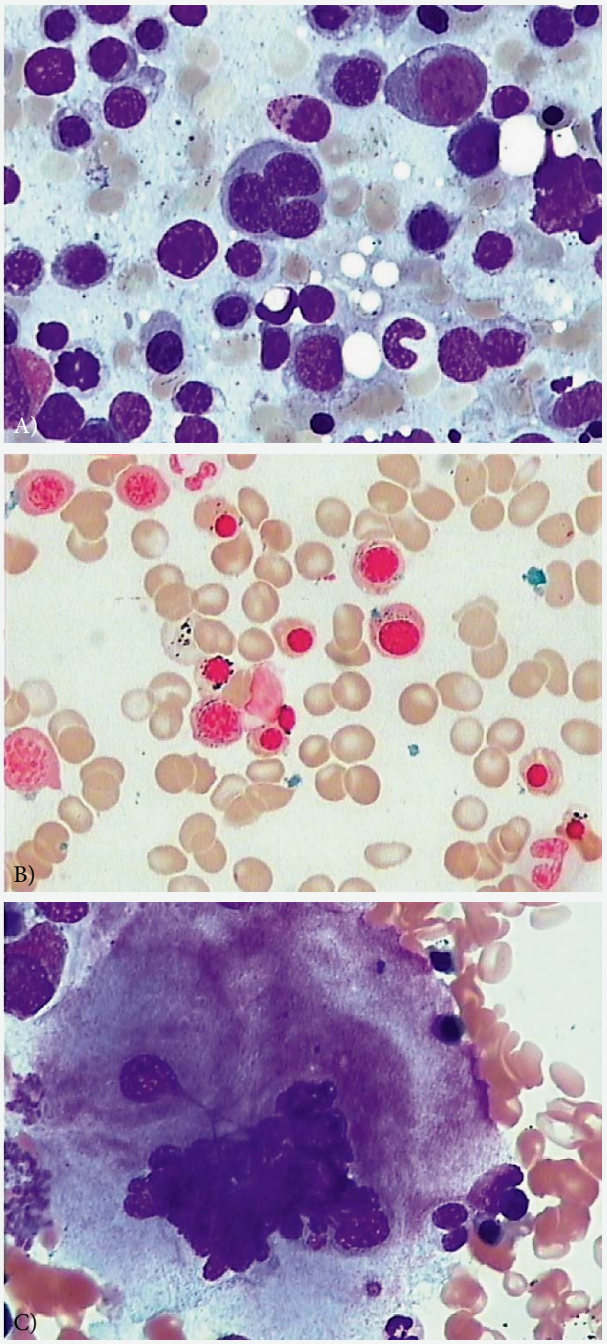
buliranim jezgrama. Diseritropoeza je prisutna u oko 50% bolesnika s aCML-om.[1–4]

Citogenetičke abnormalnosti vide se kod 80% bolesnika s aCML-om. Najčešće su +8 i del(20q). Česte su i abnormalnosti kromosoma 13, 14, 17, 19 i 12. Kromosom *Philadelphia* i fuzijski gen *BCR-ABL1* moraju biti negativni. Bolesnici s dokazanom preuredbom gena *PDGFRA*, *PDGFRB* ili *FGFR1* ili *PCM1-JAK2* fuzijskim genom izdvajaju se u posebnu kategoriju.[1,3] Na tablici 3. navedeni su kriteriji za postavljanje dijagnoze aCML-a.[3]

Bolesnici s aCML-om imaju lošu prognozu s medijanom preživljenja od 14 do 29 mjeseci. Atipični CML pokazuje agresivniji klinički tijek nego CML. U 15 – 40% pacijenata razvija se akutna leukemija.[1]

Mijelodisplastična/mijeloproliferativna neoplazma s prstenastim sideroblastima i trombocitozom (MDS/MPN-RS-T)

MDS/MPN s prstenastim sideroblastima i trombocitozom rijetka je hematološka neoplazma s izraženim mijelodisplastičnim obilježjima (anemija, displazija eritroidnih prekursora uključujući ≥ 15% prstenastih sideroblasta) i mijeloproliferativnim obilježjima (trombocitoza ≥ 450 × 10^9/L).[1–4] Ovaj se entitet, prije nazivan RARS-T, klasificirao kao „provizorna" kategorija u MDS/MPN-U jer nije bilo dovoljno dokaza da se radi o zasebnom entitetu.[1] Međutim, novija istraživanja upućuju na veliku učestalost mutacije gena *SF3B1* (koja je povezana s pojavom prstenastih sideroblasta) kod bolesnika s MDS/MPN-RS-T-om. Uz mutaciju *SF3B1* u više od 50% bolesnika prisutna je istodobna mutacija *JAK* V617F, a nešto rjeđe gena *CALR* ili *MPL*. Navedena istraživanja upućuju na to da se radi o bolesti koja uz kliničke, laboratorijske i morfološke karakteristike ima i molekularne karakteristike MDS/MPN-a pa revizija klasifikacije SZO-a iz



Slika 3. A) Displastična eritropoeza (megaloblastoidne promjene, multinukleacija), B) Displastična eritropoeza (prstenasti sideroblasti), C) Krupni megakariociti s hiperlobuliranim jezgrama (MGG, × 1000)
Figure 3. A) Dyserythropoiesis (megaloblastic changes, multinuclearity), B) Dyserythropoiesis (ring sideroblasts), C) Large megakaryocytes with hyperlobulated nuclei (MGG, × 1000)

2016. ubraja ovaj entitet kao posebnu kategoriju u MDS/MPN-u.[1,3,8,9,10]

Bolest ima morfološka obilježja MDS-a s prstenastim sideroblastima te nekog od oblika MPN-a s trombocitozom kao što su esencijalna trombocitemija (ET) ili primarna mijelofibroza (PMF). Izražena je anemija, a koštana je srž hipercelularna s umnoženom, displastičnom eritropoezom (megaloblastoidne promjene, ≥ 15% prstenastih sideroblasta) (slike 3. A i B). U razmazu periferne krvi mora biti < 1% blasta, a u koštanoj srži njih < 5%. Prisutna je perzistentna trombocitoza s brojem trombocita ≥ 450 × 10^9/L. Megakariociti u koštanoj srži umnoženi su, a morfološki mogu nalikovati na megakariocite kakve vidimo kod ET-a (vrlo krupni, s obilnim citoplazmama i hiperlobuliranim jezgrama) ili kod PMF-a (polimorfni, atipični, često hipolobulirani) (slika 3. C).[1–4]

Kao i kod ostalih entiteta MDS/MPN-a kromosom *Philadelphia* i fuzijski gen *BCR-ABL1* moraju biti negativni, a bolesnici s dokazanom preuredbom gena *PDGFRA*, *PDGFRB* ili *FGFR1* ili *PCM1-JAK2* fuzijskim genom izdvajaju se u posebnu kategoriju. Također, moraju se isključiti bolesnici s izoliranim del(5q), t(3;3)(q21;q26), inv(3)(q21q26). Dijagnozu MDS/MPN-RS-T-a ne treba postaviti u bolesnika s prije postavljenom dijagnozom MPN-a, MDS-a (osim MDS-RS-a) ili MDS/MPN-a te kod bolesnika s anamnestičkim podacima o nedavnoj citotoksičnoj terapiji u kojih pojava prstenastih sideroblasta može biti posljedica evolucije bolesti ili provedene terapije.[1,3]

Neklasificirana mijelodisplastična /mijeloproliferativna neoplazma (MDS/MPN, U)

Dijagnostička kategorija MDS/MPN, U obuhvaća hematološke neoplazme koje u vrijeme postavljanja dijagnoze pokazuju obilježja MDS-a i MPN-a, a ne zadovoljavaju dijagnostičke kriterije za ubrajanje ni u jedan od prethodno navedenih entiteta MDS/MPN-a (CMML, JMML, aCML, MDS/MPN-RS-T).[1,3]

LITERATURA

1. *Orazi A, Bennett JM, Germing U, Brunning RD, Bain BJ, Thiele J.* Myelodysplastic/Myeloproliferative Neoplasms. U: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4. izd. Lyon: IARC Press; 2008, str. 75–86.
2. *Clara JA, Sallman DA, Padron E.* Clinical management of myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasm overlap syndromes. Cancer Biol Med 2016;13(3):360–72.
3. *Arber DA, Orazi A, Hasserjian R i sur.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016;127:2391–405.
4. *Orazi A, Germing U.* The myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms: myeloproliferative diseases with dysplastic features. Leukemia 2008;22(7):1308–19.
5. *Schuler E, Schroeder M, Neukirchen J i sur.* Refined medullary blast and white blood cell count based classification of chronic myelomonocytic leukemias. Leuk Res 2014;38(12):1413–9.
6. *Patnaik MM, Tefferi A.* Cytogenetic and molecular abnormalities in chronic myelomonocytic leukemia. Blood Cancer J 2016;6:e393.
7. *Ricci C, Fermo E, Corti S i sur.* RAS mutations contribute to evolution of chronic myelomonocytic leukemia to the proliferative variant. Clin Cancer Res 2010;16(8):2246–56.
8. *Mughal TI, Cross NCP, Padron E i sur.* An International MDS/MPN Working Group's perspective and recommendations on molecular pathogenesis, diagnosis and clinical characterization of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. Haematologica 2015;100(9):1117–30.
9. *Malcovati L, Papaemmanuil E, Bowen DT i sur.* Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. Blood 2011;118(24):6239–46.
10. *Cazzola M, Rossi M, Malcovati L; the Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative.* Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. Blood 2013;121 (2):260–9.

Liječ Vjesn 2019;141:226–232
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-29

Pregled | Review

Ekspresija mikroRNK (miRNK) u mijelodisplastičnom sindromu (MDS)

Expression of micro RNAs (miRNAs) in myelodysplastic syndrome (MDS)

Mirjana Mariana Kardum Paro[1,2]✉, Inga Mandac Rogulj[3], Gordana Kaić[4], Biljana Jelić Puškarić[4], Ika Kardum-Skelin[4,6], Anita Škrtić[5,6], Slobodanka Ostojić Kolonić[3,6]

[1] Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[2] Sveučilišni centar za forenzične znanosti Sveučilišta u Splitu, Split
[3] Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[4] Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[5] Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[6] Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Deskriptori
MIJELODISPLASTIČNI SINDROMI – genetika, krv, patologija; MikroRNK – genetika, krv; HEMATOPOEZA – genetika; LANČANA REAKCIJA POLIMERAZOM U STVARNOM VREMENU – metode; ANALIZA GENSKE EKSPRESIJE; REGULACIJA GENSKE EKSPRESIJE; AKUTNA MIJELOIČNA LEUKEMIJA – genetika

SAŽETAK. Sindrom mijelodisplazije ili mijelodisplastični sindrom (MDS) naziv je za skupinu heterogenih klonskih hematoloških poremećaja hematopoetskih matičnih stanica, praćenih neučinkovitom hematopoezom jedne ili više staničnih linija i pojavom posljedičnih citopenija s povišenim rizikom od progresije u akutnu mijeloičnu leukemiju (AML). Mikroglasničke ribonukleinske kiseline (miRNK; engl. *Micro Messenger Ribonucleic Acid* – miRNA) kratke su, nekodirajuće molekule RNK koje, osim što pridonose patogenezi MDS-a, djeluju i kao regulatori epigenetičkih mehanizama i potencijalni su prognostički biljezi za ranu dijagnostiku i klasifikaciju MDS-a. Cilj je rada bilo ispitivanje razine promjene genskih ekspresija specifičnih miRNK (hsa-miR-125a, hsa-miR-99b, hsa-miR-126 i hsa-miR-125b) u plazmi zdravih dobrovoljaca i ispitanika s dijagnozom MDS-a. Ispitivanje se provodilo u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu Kliničke bolnice Merkur, akreditiranome prema normi EN ISO 15189:2012. Genske ekspresije navedenih, specifičnih miRNK određene su u uzorcima plazme zdravih dobrovoljaca (4) i ispitanika s MDS-om (33) kojima je on dijagnosticiran u Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Merkur, Referentnom centru Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske za dijagnostiku i liječenje MDS-a. Statistički značajne razlike genske ekspresije specifičnih miRNK u zdravih dobrovoljaca u odnosu prema ispitanicima s MDS-om nisu nađene [P (hsa-miR-125a) = 0,398; P (hsa-miR-99b) = 0,134; P (hsa-miR-126) = 0,305; P (hsa-miR-125b) = 0,079], a razina promjene genskih ekspresija miRNK (engl. *miRNA ratios*) hsa-miR-125a i hsa-miR-99b u ispitanika s MDS-om bila je gotovo dva puta viša u odnosu prema normaliziranim razinama genske ekspresije u zdravih dobrovoljaca (2,30 prema 1,90) i više od dva puta viša od razine promjene genske ekspresije miRNK hsa-miR-125b. Rezultati istraživanja upućuju na to da bi genske ekspresije miRNK hsa-miR-125a i hsa-miR-99b mogle biti regulirane istim mehanizmom i da bi mogle biti klinički važne u ispitanika s MDS-om.

Descriptors
MYELODYSPLASTIC SYNDROMES – blood, genetics, pathology; MicroRNAs – blood, genetics; HEMATOPOIESIS – genetics; REAL-TIME POLYMERASE CHAIN REACTION – methods; GENETIC EXPRESSION PROFILING; GENE EXPRESSION REGULATION; LEUKEMIA, MYELOID, ACUTE - genetics

SUMMARY. Myelodisplasia or myelodysplastic syndrome (MDS) is the name for a group of heterogeneous clonal hematological disorders of hematopoietic stem cells followed by ineffective hematopoesis of one or more cell lines and the emergence of consequent cytopenias with increased risk of progression to acute myelogenous leukemia (AML). Micro Messenger Ribonucleic Acids (miRNAs) are short, non-coding RNA molecules that, apart from contributing to MDS pathogenesis, act as regulators of epigenetic mechanisms and also are recognized as potential prognostic markers for early diagnosis and classification of MDS. The aim of the study was to examine the levels of gene expression of specific miRNAs (hsa-miR-125a, hsa-miR-99b, hsa-miR-126 and hsa-miR-125b) in healthy volunteers plasma and MDS diagnosed patients. Gene expressions of miRNAs were determined at the Clinical Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine, Merkur University Hospital, accredited according to EN ISO 15189:2012, in plasma samples of four healthy volunteers and 33 MDS patients diagnosed at the Institute of Hematology of the Clinic for Internal Diseases of Merkur University Hospital, Reference Center of the Ministry of Health of the Republic of Croatia for Diagnosis and Treatment of MDS. Statistically significant difference in gene expression of miRNA in healthy volunteers compared to the MDS patients was not found (P [hsa-miR-125a] = 0.398; P [hsa-miR-99b] = 0.134; P [hsa- miR-126] = 0.305; P [hsa-miR-125b] = 0.079). MiRNA ratios of hsa-miR-125a and hsa-miR-99b in MDS patients were almost twice as high compared to normalized levels of

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Izv. prof. dr. sc. Mirjana Mariana Kardum Paro, Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, I. Zajca 19, 10000 Zagreb; e-mail: mkardum@kb-merkur.hr

Primljeno 6. svibnja 2019., prihvaćeno 1. srpnja 2019.

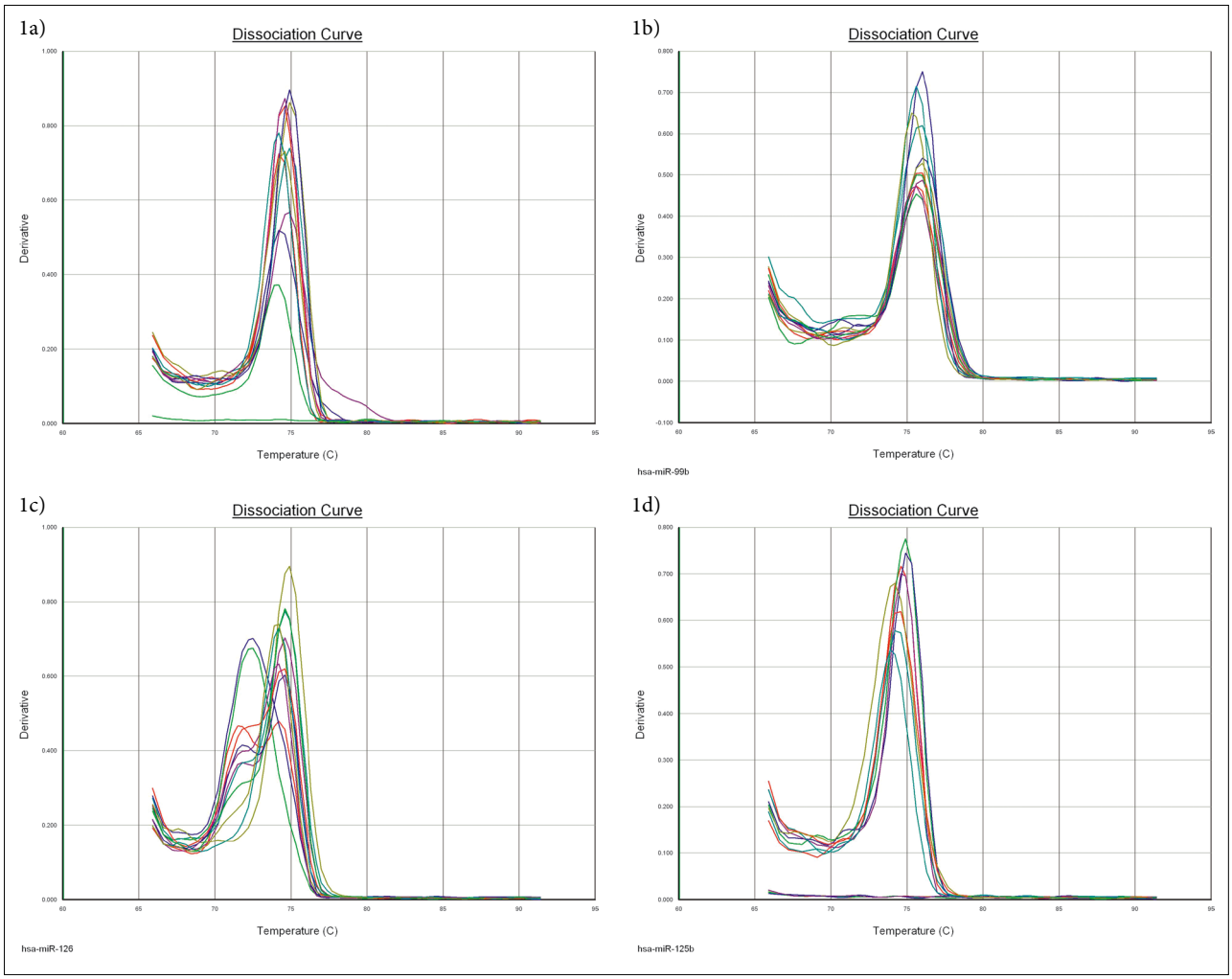
gene expression in healthy volunteers (2.30 versus 1.90), and the level of change of miRNAs hsa-miR-125 and hsa-miR-99b was more than two times higher than the level of change of miRNA hsa-miR-125b. Finally, the results of the research indicate that the gene expression of miRNAs hsa-miR-125a and hsa-miR-99b could be regulated by the same mechanism and could be clinically relevant in MDS patients.

Sindrom mijelodisplazije ili mijelodisplastični sindrom (engl. *Myelodysplastic syndrome* – MDS) naziv je za skupinu heterogenih klonskih hematoloških poremećaja hematopoetskih matičnih stanica, praćenih neučinkovitom hematopoezom jedne ili više staničnih linija uz pojavu posljedičnih citopenija s povišenim rizikom od progresije u akutnu mijeloičnu leukemiju (engl. *Acute Myeloid Leukemia* – AML). Prema vrijedećoj klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization* – WHO), dijagnoza MDS-a temelji se na morfološkim, kliničkim, citogenetičkim, imunofenotipskim i biološkim kriterijima.[1] Sukladno hrvatskim smjernicama Radne skupine za MDS Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (KROHEM), u svakodnevnoj kliničkoj praksi dijagnoza se MDS-a temelji na citomorfološkoj analizi stanica periferne krvi i koštane srži, određivanju postotka blasta, tipa i stupnja displazije, prisutnosti prstenastih sideroblasta i citogenetičkoj analizi stanica koštane srži.[2]

Mikroglasničke ribonukleinske kiseline (miRNK; engl. *Micro Messenger Ribonucleic Acids* – miRNAs) kratke su, nekodirajuće molekule duljine 18 do 25 nukleotida, koje imaju važnu ulogu u regulaciji razvoja i metabolizma stanica, njihovoj diferencijaciji i proliferaciji, regulaciji staničnog ciklusa i stanične smrti.[3,4] Tumorske stanice oslobađaju miRNK-e u cirkulaciju (plazmu, serum) gdje ostaju relativno stabilni. Iako je njihovo otkriće omogućilo povezivanje bolesti i genske ekspresije miRNK, preduvjet za njihovu kliničku primjenu jest određivanje genske ekspresije kvantitativnom lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu uz zadovoljavajuću učinkovitost i specifičnost.[3,5] U literaturi se genska ekspresija miRNK dovodi u vezu s dijagnozom, klasifikacijom i progresijom različitih bolesti: B-kroničnom limfocitnom leukemijom (B-KLL),[6] karcinomom pluća,[7] hepatocelularnim karcinomom,[8] akutnom mijeloičnom leukemijom (AML).[9] Istraživanja miRNK u MDS-u relativno su rijetka, većina ih je usmjerena na višestruko profiliranje različitih miRNK, a tek nekoliko na patogenezu i nastanak MDS-a s kojim se u vezu dovode snižene razine genskih ekspresija specifičnih miRNK hsa-miR-146a, hsa-miR-150, let-7e, hsa-miR-23a, hsa-miR-103, hsa miR-126.[10–12] Povišenu razinu genske ekspresije miRNK hsa-miR-125b u MDS-u opisali su 2008. godine Bousquet i suradnici.[13] Za izračun rizika od progresije MDS-a u AML-u rabi se Međunarodni prognostički bodovni sustav (engl. *International Prognostic Scoring System* – IPSS) uz uzimanje u obzir dobi i komorbiditeta bolesnika.[2] U literaturi je u ispitanika s MDS-om niskog rizika (engl. *International Prognostic Scoring System Low Risk* – IPSS LR) opisana povišena razina genske ekspresije miRNK let-7a u odnosu prema onoj u ispitanika s MDS-om visokog rizika (engl. *International Prognostic Scoring System High Risk* – IPSS HR).[10–12] Najčešće istraživani specifični miRNK-i hsa-miR-125a i hsa-miR-125b, koji su uključeni u regulaciju hematopoeze i stanične diferencijacije u MDS-u, te hsa-miR-125a i hsa-miR-99b u literaturi su opisani kao „potencijalni prognostički biljezi rane dijagnostike i klasifikacije MDS-a".[12]

Ispitanici i metode

Ispitivanje se provodilo u laboratoriju za molekularnu dijagnostiku Kliničkog zavoda za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu Kliničke bolnice Merkur, akreditiranome prema normi EN ISO 15189:2012. Genske ekspresije specifičnih miRNK hsa-miR-125a, hsa-miR-99b, hsa-miR-126 i hsa-miR-125b određene su u uzorcima plazme nakon centrifugiranja uzoraka pune krvi (K_2EDTA, BD Vacutainer, 6 mL) u zdravih dobrovoljaca (4) (1 muškarac i 3 žene; dob 38 godina; raspon 21 – 56 godina) i ispitanika s MDS-om (33) (23 muškarca i 10 žena; dob 71 godina; raspon 35 – 82 godine), kojima je on dijagnosticiran u Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničke bolnice Merkur, Referentnom centru Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske za dijagnostiku i liječenje mijelodisplastičnog sindroma. Dijagnoza MDS-a postavljena je na temelju citomorfološke analize stanica periferne krvi i koštane srži, određivanjem postotka blasta, tipa i stupnja displazije, prisutnosti prstenastih sideroblasta i citogenetičke analize stanica koštane srži, i to sukladno hrvatskim smjernicama Radne skupine za MDS Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (KROHEM).[2] Informirani ispitanici potpisali su pristanak na sudjelovanje u istraživanju. Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Etičko povjerenstvo Kliničke bolnice Merkur odobrila su istraživanje koje se provelo u skladu s etičkim standardima.[14] Iz uzoraka pune krvi (K_2EDTA, BD Vacutainer, 6 mL) centrifugiranjem (1900 g; 10 minuta; 2 – 8 °C) i ultracentrifugiranjem (16.000 g; 10 minuta; 2 – 8 °C) izdvojena je plazma iz koje je izoliran miRNK (miRNeasy Serum/Plasma Kit, QIAGEN GmbH) što je postupkom reverzne transkripcije preveden u komplementarni DNK (miScript II RT Kit, QIAGEN GmbH). Genske ekspresije specifičnih miRNK hsa-miR-125a, hsa-miR-99b, hsa-miR-



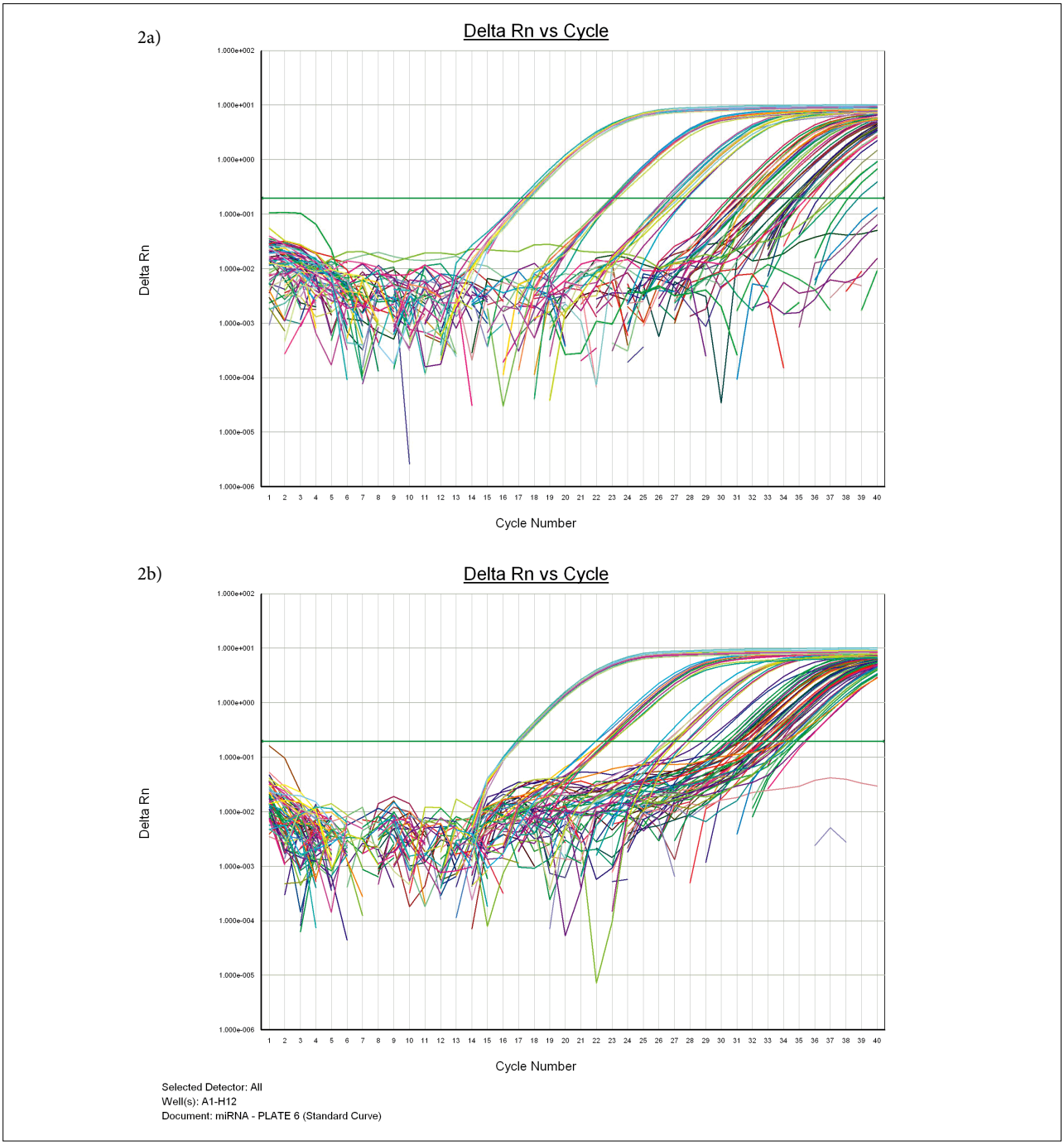
Slika 1a) – 1d). Specifičnost umnažanja lančanom reakcijom polimeraze (qPCR) specifičnih miRNA: 1a) hsa-miR-125a, 1b) hsa-miR-99b, 1c) hsa-miR-126 i 1d) hsa-miR-125b procijenjena na temelju disocijacijskih krivulja (engl. *Dissociation Curves*) miRNA nastalih završetkom standardnog programa taljenja neposredno po završetku umnažanja.

Figure 1a) – 1d). Specificity of qPCR runs of specific miRNAs: 1a) hsa-miR-125a, 1b) hsa-miR-99b, 1c) hsa-miR-126 and 1d) hsa-miR-125b assessed by the default software melting program immediately after the cycling program completion.

-126 i hsa-miR-125b određene su lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu (engl. Q*uantitative Real Time Polymerase Chain Reaction* – q-RT PCR) na mjernom instrumentu 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD) uporabom specifičnih početnica i označavanjem interkalirajućom fluorescentnom bojom (miScript SYBR Green PCR Kit/Custom PCR Array, QIAGEN GmbH, Holden, Republika Njemačka) prema protokolu proizvođača. Pritom smo kontrolirali kvalitetu izoliranih miRNK, kao i prisutnost inhibitora reverzne transkripcije (miRTC i PPC, QIAGEN, GmbH, Holden, Republika Njemačka). Normalizacija podataka genske ekspresije specifičnih miRNK obavljena je uz specifičan, kontrolni miRNK (cell-miR-39) dizajniran od proizvođača, a podaci su analizirani s pomoću programa za obradu podataka koji rabi metodu ΔΔCt (GeneGlobe Data Analysis Center, QIAGEN, https://www.qiagen.com/kr/shop/genes-and-pathways/data-analysis-center-overview-page).

Rezultati

Uz preporučene vrijednosti praga broja ciklusa umnožavanja (engl. *threshold cycle* – C_t) (C_t = 15 – 35) i nagiba pravca za cell-miR-39 (-2,887) dobili smo zadovoljavajuću učinkovitost kvantitativne lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (q-RT PCR) (115,6%), čija je specifičnost procijenjena na temelju disocijacijskih krivulja (engl. *Dissociation Curves*) specifičnih miRNK nastalih završetkom standardnog programa taljenja neposredno nakon završetka q-RT



Slika 2a) – 2b). Osnovne postavke i uvjeti kvalitativnog umnažanja miRNA lančanom rekacijom polimeraze. Osnovne postavke bile su jednake u svim ciklusima umnažanjima radi kako bi se omogućila usporedba rezultata.
Figure 2a) – 2b). The baseline settings. The baseline settings were the same across all qPCR runs to allow comparison of results.

PCR-a (slike 1.a – 1.d). Istovjetne maksimalne vrijednosti disocijacijskih krivulja specifičnih miRNK hsa-miR-125a, hsa-miR-99b, hsa-miR-126 i hsa-miR-125b upozoravaju na visoku specifičnost miRNK i odsutnost nespecifičnih produkata. Postavkom bazne linije na istu razinu iznad pozadinske fluorescencije (engl. *threshold line*) i jednake uvjete reakcije tijekom svih ciklusa umnožavanja osigurane su usporedivost i analiza dobivenih rezultata (slike 2.a – 2.b). Statistički značajna razlika genske ekspresije specifičnih miRNK u zdravih dobrovoljaca u odnosu prema onoj u ispitanika s MDS-om nije nađena [P (hsa-miR-125a) = 0,398; P (hsa-miR-99b) = 0,134; P (hsa-miR-126) = 0,305; P (hsa-miR-125b) = 0,079]. Razina promjene

Tablica 1. Analiza podataka genskih ekspresija specifičnih miRNA(GeneGlobe Data AnalysisCenter, QIAGEN).
Table 1. Specific hsa-miR qPCR data analyzed according to the GeneGlobe Data Analysis Center (QIAGEN).

miRNA /hsa-miR	Srednja vrijednost ΔC_T /mean value of ΔC_T		$2^{-\Delta C_T}$		Razina promjene /*miRNA ratios*	Razina povećanja genske ekspresije miRNA /level of change of hsa-miR	
	skupina ispitanika s MDS-om /MDS patients	zdravi dobrovoljci /healthy volunteers	skupina ispitanika s MDS-om /MDS patients	zdravi dobrovoljci /healthy volunteers	skupina ispitanika s MDS-om /MDS patients) /zdravi dobrovoljci /healthy volunteers	skupina ispitanika s MDS-om /MDS patients) /zdravi dobrovoljci /healthy volunteers	p – vrijednost /p-value
hsa-miR-125a*	6.14	7.37	0.014153	0.006162	2.30	2.30	0.398
hsa-miR-99b	6.31	7.24	0.012580	0.006638	1.90	1.90	0.134
hsa-miR-126	3.98	4.61	0.063306	0.040950	1.55	1.55	0.305
hsa-miR-125b	6.42	6.15	0.011706	0.014106	0.83	-1.21	0.079
cell-miR-39	0.00	0.00	1.000000	1.000000	1.00	1.00	0.0000

genskih ekspresija miRNK (engl. *miRNA ratios*) hsa-miR-125a i hsa-miR-99b u ispitanika s MDS-om bila je gotovo dva puta viša u odnosu prema normaliziranim razinama genske ekspresije u zdravih dobrovoljaca (cell-miR-39; 2,30 prema 1,90), a razina promjene genskih ekspresija miRNK hsa-miR-125 i hsa-miR-99b bila je više od dva puta viša od razine promjene genske ekspresije miRNK hsa-miR-125b (tablica 1.). Razina promjene i razina povećanja genske ekspresije specifičnoga, kontrolnog miRNK (cell-miR-39) dizajniranog od proizvođača nakon normalizacije podataka, obavljene prema preporukama proizvođača s pomoću programa za obradu podataka koji rabi metodu ΔΔCt, iznosile su 1,00 (tablica 1.).

Rasprava

U dijagnostici cirkulirajućeg miRNK rabe se različite metode određivanja njegove genske ekspresije od kojih su najčešće metoda otiska *northern*,[15,16] metoda mikrorešetke,[17] hibridizacija *in situ* i metoda kvantitativne lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (q-RT PCR),[18,19] a svaka od njih ima prednosti i ograničenja (tablica 2.). Iako se određivanje genske ekspresije miRNK ili njegovo višestruko profiliranje metodom kvantitativne lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu smatra „zlatnim standardom", ono ovisi o odabiru platforme, metodologiji (načinu izolacije i pripreme miRNK), načinu normalizacije i analize rezultata (apsolutna ili relativna kvantifikacija). Smjernice za standardizaciju i kontrolu kvalitete određivanja genske ekspresije miRNK kvantitativnom lančanom reakcijom polimerazom u stvarnom vremenu podrazumijevaju uporabu optimalne metode normalizacije.[20,21] Pri analizi rezultata apsolutnom kvantifikacijom uobičajeni je način normalizacije podataka prema preporukama proizvođača ili nekim od referentnih gena, jer se tako mogu ukloniti eventualne metodološki uvjetovane razlike u kvaliteti izoliranog miRNK, a koje ne odražavaju stvarne promjene njegove genske ekspresije. Smatra se da je najbolji i preporučeni način normalizacije podataka kombinacija endogenih i egzogenih kontrolnih miRNK.[22,23] Posljednjih su godina otkriveni različiti miRNK-i koji patogenezi neke bolesti pridonose bilo modulacijom tumorskih onkogena ili modulacijom gena za tumorski supresor, a pri patogenezi MDS-a (s dokazanim kromosomskim promjenama i normalnim kariotipom) regulacijom epigenetičkih mehanizama.[12] Otkrivena je povišena razina genske ekspresije više od 18 različitih miRNK u ispitanika s MDS-om u usporedbi sa zdravim dobrovoljcima.[10] Prema literaturnim podacima, istražuju se različiti miRNK-i, što odražava heterogenost MDS-a kao klonskoga hematološkog poremećaja ili može biti direktna posljedica različitih protokola istraživanja. U ispitanika s MDS-om niskog rizika (IPSS LR) dokazana je povišena razina genske ekspresije miRNK let-7a u odnosu prema onoj u ispitanika s MDS-om visokog rizika (IPSS HR).[15] Nadalje, povišena razina genske ekspresije miRNK hsa-miR--125a u ispitanika s MDS-om u odnosu prema genskoj ekspresiji u zdravih dobrovoljaca (povišena više od 2 puta u 71% ispitanika s MDS-om) u korelaciji je s prognozom bolesti (ispitanici s MDS-om i povišenom razinom genske ekspresije hsa-miR-125a imali su lošiju prognozu). Povišene razine genskih ekspresija miRNK hsa-miR-125a i hsa-miR-99b (povišene više od 2 puta od onih u zdravih dobrovoljaca) otkrivene su u približno 30% ispitanika s MDS-om. Pretpostavlja se da je koekspresija njihovih genskih ekspresija posljedica kodiranosti istim klasterom DNK.[11,24] Treći član ovog klastera DNK jest miRNK let-7e. Svi literaturni podaci

Tablica 2. Najčešće metode određivanja genske ekspresije miRNA(prilagođeno prema de Planell-Saguera M, Rodicio MC. Analytical aspects of microRNA in diagnostics: A review. Analytica Chimica Acta 2011;699:134-152.).
Table 2. MiRNA gene expression methods (de Planell-Saguera M, Rodicio MC. Analytical aspects of microRNA in diagnostics: A review. Analytica Chimica Acta 2011;699:134-152.) (customized).

Metoda Method	Mehanizam djelovanja Mechanism of action	Prednostimetode Method advantages	Nedostaci metode Method disadvantages
northernblot / northern blot analysis	komplementarna oligonukleotidna sonda se veže na ciljnu miRNA uhvaćenuna nitrocelluloznu membranu /the complementary oligonucleotide probe binds to the target miRNA captured on the nitrocellulose membrane	široko primjenjiva / widely applicable kvantitativna / quantitative zadovoljavajuće specifičnosti / satisfactory specificity	nisko osjetljiva / low sensitive potrebne velike količine uzorka / requires large sample volumes vremenski zahtjevna / time consuming
analizamikropostroja / microarray analysis	hibridizacijanukleinskih kiselina između miRNAi odgovarajuće komplementarne sonde imobilizirane na mikropostroj / nucleic acid hybridization between the hsa-miR and the corresponding complementary probe immobilized on a microarray	profiliranje višestrukih miRNA / multiple hsa-miR profiling istovremena analiza više miRNA / simultaneous analysis of multiple hsa-miR brza analiza podataka / rapid data analysis	nisko osjetljiva / low sensitive nisko specifična / low specific
in situ hibridizacija / *in situ* hybridization	detekcija miRNA hibridizacijom komplementarnog lanca nukleotidne sonde na sekvencu od interesa / hsa-miR detection by hybridization of the complementary nucleotide probe strand to the sequence of interest	razlučivost na staničnoj / substaničnojrazini pomoću neradioaktivnih sondi / resolution on cell or subcell level using non-radioactive probes	dugotrajna / longlasting semikvantitativna / semiquantitative
kvantitativno određivanje lančanom reakcijom polimeraze / quantitative real-time PCR-based detection	reverzna transkripcija ciljane miRNA u komplementarnu DNA uz umnažanje lančanom reakcijom polimeraze što rezultira fluorescencijom / reverse transcription of target miRNA to complementary DNA with multiplication by PCR resulting in fluorescence	visoko osjetljiva / highly sensitive kvantitativna / quantitative točna / accurate jednostavna / simple	visoko osjetljiva / highly sensitive specifična / specific financijski i vremenski zahtjevna / financially and time demanding

upućuju na gensku ekspresiju klastera hsa-miR-99b/let-7e/hsa-miR-125a reguliranu istim mehanizmom i pretpostavku da bi miRNK hsa-miR-99b i hsa-miR-125a mogle biti klinički važne u ispitanika s MDS-om.[24,25] U radu je razina promjene genskih ekspresija miRNK hsa-miR-125a i hsa-miR-99b u ispitanika s MDS-om bila gotovo dva puta viša od normaliziranih razina genske ekspresije u zdravih dobrovoljaca, što bi moglo upozoravati na to da su upravo ovi specifični miRNK-i najvažniji članovi klastera DNK u patogenezi MDS-a. Nadalje, razina promjene genskih ekspresija miRNK hsa-miR-125 i hsa-miR-99b bila je više od dva puta viša od razine promjene genske ekspresije miRNK hsa-miR-125b. Iako je MDS bolest starijih osoba (medijan dobi iznosi 70 godina), može se javiti u bilo kojoj dobi. U ovom su istraživanju sudjelovala 33 ispitanika s MDS-om (medijan dobi 71; raspona godina 35 – 82). Porast incidencije bolesti u starijih od 70 godina (s 3/100.000 na 20/100.000) mogao bi biti razlog povećanog broja muškaraca među ispitanicima s MDS-om (23), iako žene uobičajeno obolijevaju 1,5 puta češće od muškaraca. Premda su skupine zdravih dobrovoljaca i ispitanika s MDS-om malene s obzirom na broj ispitanika (4 zdrava ispitanika i 33 ispitanika s MDS-om), u literaturi su uspoređivane i manje grupe (1 – 20 zdravih dobrovoljaca i 20 – 45 ispitanika s MDS-om). No, valja pretpostaviti da je nepostojanje statistički značajne razlike genske ekspresije specifičnih miRNK u zdravih dobrovoljaca u odnosu prema ispitanicima s MDS-om moguće i zbog malog broja ispitanika u skupinama, kao i da bi istraživanje provedeno na većem broju ispitanika vjerojatno moglo utvrditi statistički značajne razlike genske ekspresije ovih miRNK. Ipak, u literaturi se povišene razine genskih ekspresija miRNK hsa-miR-125a i hsa-miR-99b dovode u vezu s lošijom prognozom MDS-a, najvjerojatnije zbog poremećene hematopoeze i stanične diferencijacije koje uzrokuju funkcionalne promjene stanica periferne krvi (anemiju, trombocitopeniju i, rjeđe, neutropeniju).

Zaključak

Metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (q-RT PCR) određene su genske ekspresije specifičnih miRNK hsa-miR-125a, hsa-miR-99b, hsa-miR-126 i hsa-miR-125b i ispitane razine njihove

promjene pri MDS-u u odnosu prema genskim ekspresijama u zdravih dobrovoljaca. Iako nisu nađene statistički značajne razlike genskih ekspresija specifičnih miRNK u zdravih dobrovoljaca u odnosu prema onima u ispitanika s MDS-om, u ispitanika s MDS-om razina je promjene genskih ekspresija miRNK hsa-miR-125a i hsa-miR-99b nakon normalizacije bila gotovo dva puta viša od genske ekspresije u zdravih dobrovoljaca. Rezultati istraživanja upućuju na to da bi genske ekspresije miRNK hsa-miR-125a i hsa-miR-99b mogle biti regulirane istim mehanizmom i da bi mogle biti klinički važne u ispitanika s MDS-om.

Zahvala

Autori zahvaljuju gospođi Mariji Rukavini na moralnoj potpori i Zakladi Ane Rukavine na materijalnoj potpori koja je poduprla i omogućila ovo istraživanje.

LITERATURA

1. *Arber DA, Orazi A, Hasserjian R i sur.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016;127:2391–405.
2. *Gredelj Šimec Nj, Kaić G, Škrtić A i sur.* Smjernice za dijagnozu i liječenje bolesnika s mijelodisplastičnim sindromom. Liječ Vjesn 2017;139:1–11.
3. *Cortez MA, Calin GA.* MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases. Expert Opin Biol Ther 2009;9(6):703–11.
4. *Li Y, Kowdley KV.* Method for microRNA isolation from clinical serum samples. Anal Biochem 2012;431:69–75.
5. *Benes V, Castoldi M.* Expression profiling of microRNA using real-time quantitative PCR, how to use it and what is available. Methods 2010;50:244–9.
6. *Calin GA, Liu CG, Sevignani C i sur.* MicroRNA profiling reveals distinct signature sin B cell chronic lymphocytic leukemias. Proc Natl Acad Sci USA 2004;101:11755–60.
7. *Iorio MV, Ferracin M, Liu CG i sur.* MicroRNA gene expression deregulation in human brest cancer. Cancer Res 2005; 65:7065–70.
8. *Murakami Y, Yasuda T, Saigo K i sur.* Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. Oncogene 2006;25:2537–45.
9. *Fang J, Varney M, Starczynowski DT.* Implication of microRNAs in the pathogenesis of MDS. Curr Pharm Dess 2012; 18(22):3170–9.
10. *Pons A, Nomdedeu B, Navarro A i sur.* Hematopoiesis-related microRNA expression in myelodisplastic syndromes. Leuk Lymphoma 2009;50(11):1854–9.
11. *Sokol L, Caceres G, Volinia S i sur.* Identification of a risk dependent microRNA expression signature in myelodisplastic syndrome. Br J Haematol 2011;153(1):24–32.
12. *Hussein K, Theophile K, Büsche G i sur.* Significant inverse correlation of microRNA-150/MYB and microRNA-222/p27 in myelodysplastic syndrome. Leuk Res 2010;34:328–34.
13. *Bousquet M, Quelen C, Rosati R i sur.* Myeloid cell differentiation arrest by miR-125b-1 in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with the t(2;11)(p21;q23) translocation. J Exp Med 2008;205:2499–506.
14. *Narodne novine 25/2015.* Pravilnik o kliničkim ispitivanjima lijekova i dobroj kliničkoj praksi. Zagreb: Narodne novine; 2015.
15. *Vasilatou D, Papageorgiou SG, Dimitriadnis G i sur.* Epigenetic alterations and microRNAs: new players in the pathogenesis of myelodisplastic syndromes. Epigenetics 2013;8(6): 561–70.
16. *Sempere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I i sur.* Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. Genome Biol 2004;5(3):R13.
17. *Válóczi A, Hornyk C, Varga N i sur.* Sensitive and specific detection of microRNAs by northern blot analysis using LNA-modified oligonucleotide probes. Nucl Acid Res 2004; 32(22):e175.
18. *Thomson JM, Parker J, Perou CM i sur.* A custom microarray platform for analysis of microRNA gene expression. Nat Methods 2004;1(1):47–53.
19. *Chen C, Ridzon DA, Broomer AJ i sur.* Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT- PCR. Nucleic Acids Res 2005;33(20):e179.
20. *de Planell-Saguera M, Rodicio MC.* Analytical aspects of microRNA in diagnostics: a review. Anal Chim Acta 2011;699: 134–52.
21. *Bustin SA, Beaulieu JF, Huggett J i sur.* MIQE precis: practical implementation of minimum standard guidelines for fluorescence-based quantitative real-time PCR experiments. BMC Mol Biol 2010;11:74.
22. *Livak KJ, Schmittgen TD.* Analysis of relative gene expression data using Real Time quantitative PCR and the 2 Ct Method. Methods 2001;25:402–8.
23. *Schwarzenbach H, Machado da Silva A, Calin G, Pantel K.* Which is the accurate data normalization strategy for microRNA quantification? Clin Chem 2015;61(11):1333–42.
24. *Gañán-Gómez I, Wei Y, Yang H i sur.* Overexpression of miR-125a in myelodysplastic syndrome CD34+ cells modulates NF-kB activation and enhances erythroid differentiation arrest. PLoS ONE 2014;9(4):e93404.
25. *Erdogan B, Bosompem A, Peng D i sur.* Methylation of promoters of microRNAs and their host genes in myelodysplastic syndromes. Leuk Lymphoma 2013;54(12):2720–7.

Liječ Vjesn 2019;141:233–237
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-30

Pregled | Review

Izražaj cirkulirajućeg mikroRNK u mijelodisplastičnom sindromu

Circulating microRNA expression in myelodysplastic syndrome

Inga Mandac Rogulj[1,4], Vibor Milunović[1], Mirjana Mariana Kardum Paro[2], Delfa Radić Krišto[1,5], Gordana Kaić[3], Slobodanka Ostojić Kolonić[1,6]✉

[1] Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[2] Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[3] Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[4] Zdravstveno veleučilište u Zagrebu, Zagreb
[5] Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek
[6] Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Deskriptori
MIJELODISPLASTIČNI SINDROMI – dijagnoza, genetika, patologija; MikroRNK-genetika, krv; KRVOTVORNE MATIČNE STANICE – patologija; ANALIZA GENSKE EKSPRESIJE; AKUTNA MIJELOIČNA LEUKEMIJA – genetika; BIOMARKERI

SAŽETAK. Mijelodisplastični sindrom (MDS) klonski je poremećaj krvotvorne matične stanice karakteriziran neučinkovitom hematopoezom i citopenijom u perifernoj krvi, a u oko trećine bolesnika može doći do progresije poremećaja u akutnu mijeloičnu leukemiju (AML). Dijagnoza MDS-a postavlja se nakon analize periferne krvi i koštane srži, a ovisno o postotku blasta u koštanoj srži, broju citopenija te citogenetičkim abnormalnostima, određuju se prognostički indeksi (engl. *International Prognostic Scoring System* – IPSS, *Revised International Prognostic Scoring System* – IPSS-R, *WHO Prognostic Scoring System* – WPSS). Dosad su provedena brojna istraživanja o molekularnim mehanizmima i epigenetičkim putovima u mijelodisplastičnom sindromu te njihovu prognostičkom i terapijskom značenju, ali je malo studija o važnosti mikroRNK (miRNK) u MDS-u. U posljednjih nekoliko godina objavljeni su brojni rezultati o utjecaju aberantnog izražaja miRNK u malignim poremećajima, pri čemu su se miRNK-i pokazali kao geni koji suprimiraju tumor ili onkogeni. U pojedinim su tumorima miRNK-i prepoznati kao dijagnostički i prognostički parametri te mogući terapijski ciljevi. U ovom radu donosimo pregled dosadašnjih rezultata o ulozi miRNK u MDS-u.

Descriptors
MYELODYSPLASTIC SYNDROMES – diagnosis, genetics, pathology; MicroRNAs – blood, genetics; HEMATOPOIETIC STEM CELLS – pathology; GENE EXPRESSION PROFILING; LEUKEMIA, MYELOID, ACUTE – genetics; BIOMARKERS

SUMMARY. Myelodysplastic syndrome (MDS) is a clonal hematopoietic stem cell disorder characterized by ineffective hematopoiesis and cytopenia in peripheral blood, where about a third of patients may develop acute myeloid leukemia (AML). The diagnosis of MDS requires the analysis of peripheral blood and bone marrow. Depending on the percentage of blasts in the bone marrow, the number of cytopenias and cytogenetic abnormalities, determination of the prognostic indices is possible (IPSS - „International Prognostic Scoring System", R-IPSS-„Revised International Prognostic Scoring System", WPSS - „WHO Prognostic Scoring System"). Until today, numerous studies have been conducted on the molecular mechanisms and epigenetic pathways in myelodysplastic syndrome, and their prognostic and therapeutic importance, but there are few studies analyzing the importance of microRNAs (miRNAs) in MDS. In the last few years, there have been numerous results on the impact of aberrant miRNA expression in malignant disorders where the miRNA represent tumor suppressor genes or oncogenes. Several miRNAs have been recognized as diagnostic and prognostic parameters and possible therapeutic targets. In this paper, we present the overview of recent results on the role of miRNA in MDS.

Mijelodisplastični sindrom (MDS) klonski je poremećaj krvotvorne matične stanice karakteriziran neučinkovitom hematopoezom i citopenijom u perifernoj krvi, a u oko trećine bolesnika može doći do progresije poremećaja u akutnu mijeloičnu leukemiju (AML). Dijagnoza MDS-a postavlja se nakon analize periferne krvi i koštane srži, a ovisno o postotku blasta u koštanoj srži, broju citopenija te citogenetičkim abnormalnostima, određuju se prognostički indeksi (IPSS, IPSS-R, WPSS).[1–4]

Prognostičku važnost u MDS-u pokazali su i parametri vezani uz dob bolesnika, komorbiditet, stupanj fibroze koštane srži (> 2), povišenu vrijednost LDH i beta-2-mikroglobulina, serumskog albumina te brojne somatske mutacije. Mijelodisplastični sindrom najčešće se pojavljuje kod starijih bolesnika (prosjek 70 godina), dok je oko 10% bolesnika mlađe od 50 godina. Incidencija MDS-a iznosi 4/100.000 osoba, dok se kod starijih od 70 godina dijagnosticira u 40 – 50/100.000 stanovnika.[3,4,10]

Hematopoeza je regulirana složenom mrežom molekularnih mehanizama koji reguliraju diferencijaciju, proliferaciju i apoptozu, a brojne citogenetičke promjene i mutacije gena, aberantna metilacija promotora

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prof. dr. sc. Slobodanka Ostojić Kolonić, Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur, I. Zajca 19, 10000 Zagreb;
e-mail: ostojić@net.hr

Primljeno 6. svibnja 2019., prihvaćeno 1. srpnja 2019.

gena koji suprimiraju tumor te utjecaj pojedinih mikroRNK (miRNK) unatrag nekoliko godina zauzimaju sve veću dijagnostičku i prognostičku važnost.[5–8] MikroRNK iz plazme ili seruma neinvazivan je i brzo dostupan biomarker koji se zasad, kao cirkulirajući, analizira u eksperimentalnim radovima, ali ima velik potencijal da u budućnosti postane dijagnostički ili prognostički parametar.

Dosadašnja istraživanja

Dosad su provedena mnoga istraživanja o molekularnim mehanizmima i epigenetičkim putovima u mijelodisplastičnom sindromu te njihovu prognostičkom i terapijskom značenju, ali je malo studija o važnosti mikroRNK u MDS-u.

U posljednjih nekoliko godina objavljeni su brojni rezultati o utjecaju aberantnog izražaja miRNK u malignim poremećajima, pri čemu su se miRNK-i pokazali kao geni koji suprimiraju tumor ili onkogeni. U pojedinim su tumorima miRNK-i prepoznati kao dijagnostički i prognostički parametri te mogući terapijski ciljevi.

Cirkulirajući miRNK u dosadašnjim se istraživanjima pokazao pouzdanim biomarkerom. Prema definiciji, idealan biomarker trebao bi biti specifičan, neinvazivno lako mjerljiv, jednostavno uporabljiv u dijagnostici i praćenju, visoke prediktivnosti i osjetljivosti. Većina danas dostupnih biomarkera u plazmi ili serumu niske su specifičnosti i osjetljivosti, jednim dijelom i jer se uglavnom radi o proteinima koje sintetiziraju zdrave i maligne stanice.[9]

miRNK-i maleni su, jednolančani RNK-i približne veličine 22 nukleotida kodirana od različitih gena. Nalaze se u mikrovezikulama (egzosomima) koje otpuštaju tumorske stanice i u kojima cirkuliraju od jedne do druge stanice. miRNK-i se ne prepisuju u proteine, nego reguliraju ekspresiju drugih gena režući ili, češće, smanjujući translaciju njihova glasničkog RNK (mRNK). Identifikacija specifičnih miRNK i praćenje promjena u njihovu izražaju u stanicama ili tkivima važni su pri razumijevanju regulacije gena, i u fiziološkim i u patološkim stanjima. Nekodirajući, maleni miRNK-i reguliraju više od trećine ljudskih gena tako što djeluju na posttranskripcijskoj razini i utječu na izražaj proteina smanjivanjem translacije ili destabiliziranjem ciljanoga glasničkog RNK.[8,10–16]

Oko 50% poznatih gena miRNK smješteno je na fragilnim mjestima koja se dovode u vezu s nastankom tumora. Cirkulirajući i stabilni miRNK-i mogu se naći u različitim tjelesnim tekućinama: plazmi, serumu, slini, cerebrospinalnom likvoru, majčinu mlijeku. Imaju važnu ulogu u brojnim razvojnim procesima koji uključuju metabolizam, apoptozu, stanični rast, diobu matičnih stanica, diferencijaciju miocita i morfogenezu mozga.[9]

Prvi rad koji je povezao izražaj miRNK u malignim poremećajima bio je upravo iz područja hematologije. Calin i suradnici identificirali su dva miRNK (miR-15a i miR-16) koji su bili smješteni u kromosomskoj regiji 13q14. Ova genomska regija izbrisana je u većini slučajeva B-kronične limfocitne leukemije (B-KLL), a dva navedena miRNK slabijeg su izražaja kod oko 70% nositelja ove delecije.[18]

Cirkulirajući miRNK počeo se proučavati i kao dijagnostički biomarker pa je nekoliko autora analiziralo pojedine miRNK-e u hematološkim poremećajima.

Tako je kod akutne mijeloične leukemije uočen pojačan izražaj miRNK-150 i miRNK-155 u odnosu prema zdravim kontrolnim ispitanicima s osjetljivošću od 91,4% i specifičnošću od 87,5%, a AML se pokazao kao jedan od najboljih modela bolesti za pouzdaniju dijagnostičku vrijednost razine miRNK.

Moussay i suradnici analizirali su izražaj miRNK u grupi bolesnika s KLL-om koji su bili pozitivni i negativni na ZAP-70, a usporedili su ih sa zdravim pojedincima te bolesnicima s multiplim mijelomom i triholeukemijom. U plazmi bolesnika s KLL-om negativnih na ZAP-70 izdvojena je povišena vrijednost miRNK-150 koja je korelirala s agresivnijom prezentacijom bolesti. Snižena razina miRNK-20a i pozitivan izražaj ZAP-70 kod dijagnoze definirali su grupu bolesnika s KLL-om i bržom progresijom bolesti te potrebom za ranijim liječenjem.[20]

Stamatopoulos i suradnici uočili su povišenu razinu miRNK-150 u serumu bolesnika s KLL-om i nepovoljnim citogenetičkim promjenama te pozitivnim CD38. Razvili su kvantitativni PCR-zbroj koji uključuje prognostičke parametre ZAP-70, lipoprotein lipazu (LPL) i miR-29c u bolesnika s KLL-om. Prisutnost lošijih prognostičkih parametara (pojačan izražaj ZAP-70, LPL i niska razina miR-29c) povezani su s lošijim ukupnim preživljenjem. Visoka razina miR-21 uz del17p pokazala se izrazito lošim prognostičkim parametrom ukupnog preživljenja u bolesnika s KLL-om.[21]

miRNK-i su grubo podijeljeni na gene koji suprimiraju tumor i onkogene, a pojedini miRNK može u jednom tumoru biti tumorski supresor, a u drugome onkogen. Svaki tumor ima specifične miRNK-e koji mogu biti različito izraženi. miRNK ima i kritičnu ulogu pri reguliranju razvoja matične stanice i progenitornih stanica u zrelu mijeloidnu stanicu, a njegov pojačan ili slabiji izražaj pokazao se važnim u onkogenezi i diferenciranju u pojedinim hematopoetskim odjeljcima.[16,17,19–21]

Pojačan izražaj pojedinih miRNK u AML-u, KML-u (kroničnoj mijeloičnoj leukemiji), NHL-DLBCL-u (ne-Hodgkinovu limfomu, difuznom B-velikostaničnome) te B-KLL-u povezan je s lošijim preživljenjem, slabijim odgovorom na terapiju i višim rizikom od relapsa, iako su pojedini autori pokazali i da snižena

razina pojedinih miRNK može pozitivno korelirati s rizikom od relapsa ili s neuspjehom liječenja. Također je uočeno da izražaj miRNK u pojedinim hematološkim poremećajima može pridonijeti određivanju tijeka bolesti, pa i kad su prognostički parametri povoljni.[22–32]

Izražaj miRNK u MDS-u

Nekoliko je studija dokazalo povezanost izražaja pojedinih miRNK s podtipovima MDS-a te ostalim dosad poznatim prognostičkim parametrima.

Hussein i suradnici analiziranjem 365 miRNK u 25 bolesnika s MDS-om pokazali su globalno sniženu regulaciju razine miRNK koji su uključeni u normalnu hematopoezu, upozoravajući na sličnost sa slabijim izražajem miRNK u ostalim malignim bolestima.[33]

Izražaji miRNK-10a i miRNK-34a mogu diferencirati MDS nižeg rizika u odnosu prema visokorizičnomu. Tako je profil izražaja miRNK u RAEB-1 (refraktorna anemija s viškom blasta tipa I) bio sličan izražajima kod IPSS-a niskog rizika, dok je profil izražaja miRNK pri MDS-u RAEB-2 (refraktorna anemija s viškom blasta tipa II) pokazao sličnost s onime u bolesnika s AML-om.[34–36]

Jedna od studija koje su pokušale povezati izražaj različitih miRNK s poznatim prognostičkim parametrima uključila je 44 bolesnika s MDS-om i definirala 68 miRNK koji su bili različitog izražaja među bolesnicima s MDS-om visokog rizika i s onime niskog rizika. Izdvojen je miRNK-181b koji je bio pojačano izražen u obje grupe, ali je njegov pojačani izražaj u grupi s MDS-om niskog rizika bio povezan s kraćim preživljenjem.[37]

Pons i suradnici analizirali su 25 uzoraka koštane srži bolesnika s MDS-om i identificirali 12 pojačano eksprimiranih miRNK u koštanoj srži te njih 6 u perifernoj krvi. Većina tih miRNK pripadala je skupini miRNK-17-92 čija je funkcija povezana s deregulacijom proliferacije i antiapoptotičkim mehanizmima, što može objasniti poremećenu proliferaciju hematopoetskih stanica u MDS-u. U daljnjoj analizi 6 miRNK bilo je pojačano izraženo i u uzorcima periferne krvi, dok su 3 miRNK (miRNK-181a, miRNK-222 i miRNK-155) bila pojačano izražena u MDS-u visokog rizika za razliku od njihove niske ekspresije pri MDS-u niskog rizika. U drugom je istraživanju grupa miRNK-1/miRNK-133a bila pojačano eksprimirana u svim uzorcima.[37]

Dostalova i suradnici identificirali su 13 pojačano izraženih miRNK i njih 9 slabije izraženih. U daljnjoj analizi bolesnici su podijeljeni na RAEB 1, RAEB 2 i AML. Profil RAEB-a 1 bio je sličan zdravim kontrolama, dok je RAEB 2 bio sličan AML-u. Autori su izdvojili dva miRNK: miRNK-10-a i miRNK-34-a. miRNK 10-a bio je povezan s leukemijskom transformacijom u podtipu RAEB 2, dok je miRNK 34-a bio povezan s alteracijom hematopoeze. Ovo je ujedno prva studija koja je pokazala patogenetski mehanizam miRNK u MDS-u.[38] Erdogan i suradnici analizirali su 44.519 proba miRNK u niskorizičnome MDS-u. Pet miRNK ostalo je znatno u validacijskoj skupini s konstruiranim algoritmom od čak 50 ciljanih gena koji su varirali od transkripcijske regulacije do translacije RNK, pokazujući da malen broj miRNK može ciljati multiple mRNK-e ciljnih gena.[39] Choi i suradnici istraživali su utjecaj učestalih kromosomskih abnormalnosti u MDS-u, trisomije 8 i 1q, na ekspresiju miRNK. Nađene su znatno više razine miRNK-194-5p i miRNK-320a u ovih bolesnika s mogućom prognostičkom implikacijom za miRNK-194-5p. Pons i suradnici identificirali su kod 25 bolesnika s MDS-om pojačanu ekspresiju 12 miRNK u koštanoj srži.[37] Nadalje, 6 tih miRNK bilo je uočeno i u perifernoj krvi.

Sokol i suradnici uspjeli su u 45 bolesnika s MDS-om pronaći profil miRNK koji je uključivao 10 različitih miRNK. Taj je profil mogao razdvojiti bolesnike prema IPSS-u na visokorizične i niskorizične. MiR-181b bio je izraženiji u visokorizičnoj skupini, ali je njegov pojačani izražaj u niskorizičnoj skupini bio povezan s lošijim preživljenjem (3,5 prema 9,3 godine).[43]

Prva studija koja je rabila cirkulirajući miRNK (let 7a i miRNK 16) u plazmi 50 bolesnika s MDS-om pronašla je bimodalnu distribuciju ekspresije ovih biomarkera. Autori su u daljnjoj analizi podijelili bolesnike u dvije skupine s obzirom na razinu izražaja. Visoke razine ovih biomarkera bile su povezane s lošijim ishodom ukupnog preživljenja i preživljenja bez leukemijske transformacije, dok je let 7a u multivarijatnoj analizi bio neovisan čimbenik.[25]

U plazmi 72 bolesnika s MDS-om i normalnim kariogramom u usporedbi s 12 zdravih kontrolnih ispitanika analiziran je izražaj 800 proba humanoga cirkulirajućeg miRNK. Uzorci plazme uzeti su kod novodijagnosticiranih bolesnika prije bilo kakvog liječenja i 6 mjeseci nakon njega. Glavni cilj studije bila je identifikacija mikroRNK u plazmi bolesnika koji mogu biti prognostički biomarkeri ako ne postoje citogenetičke abnormalnosti, a ni ostali rizični čimbenici. Nađen je profil od 7 miRNK (let 7a, miRNK 144, 16, 25, 451, 651 i 655) koji je mogao podijeliti bolesnike s obzirom na ishod u dvije skupine s rizikom od smrti u iznosu od 6,54%. Nadalje, taj je profil mogao predvidjeti ishod s većom točnošću (75%) od samog IPSS-a (50%). Kod bolesnika s MDS-om s diploidnim kariotipom i bez poznatih somatskih mutacija povezanih s MDS-om gotovo da i ne postoje dosad poznati kliničkopatološki i biološki markeri koji bi prognostički stratificirali ovu grupu. Od izdvojenih miRNK, miRNK-144/451 lokus nalazi se na kromosomu 17 te sudjeluje u eritroidnom razvoju i homeostazi. miR-25 poznati je regulator p53 i uključen u „programiranje“ matične stanice.[41]

Studija koja je rabila miRNK kao prognostički čimbenik za liječenje hipometilirajućim agensima, 5-azacitidinom i decitabinom uključivala je 58 bolesnika s primarnim ishodom ukupnog odgovora. Bolesnici su, prema izražaju cirkulirajućeg miRNK 21, podijeljeni u dvije skupine. Skupina s pojačanim izražajem imala je znatno nižu stopu odgovora (41,2%) za razliku od skupine sa slabim izražajem (73,2%), s osjetljivosti od 83,3% i specifičnosti od 45,8% za navedeni biomarker. Nije pokazana bitna razlika u ukupnom preživljenju, no vrijeme bez leukemijske transformacije bilo je znatno dulje u skupini sa slabijim izražajem miR-21 (44,5 prema 14 mjeseci).[42]

Pojačan izražaj miR-126 u bolesnika s MDS-om povezan je s kraćim preživljenjem, većom učestalosti relapsa i pojačanim izražajem onkogena.[38]

miR-125b ima više ciljnih molekula preko kojih istodobno kontrolira proproliferativne i proapoptotske signalne putove, a koji moraju biti usko regulirani u fiziološkim uvjetima. Ako se tijekom karcinogeneze izgube mehanizmi regulacije, dolazi do aktiviranja ili blokiranja onkogenih putova ili putova koji suprimiraju tumor.

Ako je miR-125b slabijeg izražaja, izgubljena je njegova funkcija tumorskog supresora i dolazi do aktiviranja onkogenih putova, zaustavljanja proapoptotske kaskade te maligne transformacije. Ako je miR-125b pojačano izražen zbog kromosomskih translokacija ili transkripcijskih aktivacija, potaknuti su onkogeni signalni putovi koji smanjuju aktivnost p53 ili ostalih apoptotskih mehanizama. Analizom izražaja miRNK u multiplim hematopoetskim subpopulacijama uočeno je da je miR-125b među najviše zastupljenim miRNK u matičnim stanicama i sudjeluje kao regulator hematopoeze na razini matične stanice.[39–41,46]

miR-125a inhibira eritroidnu diferencijaciju u staničnim linijama leukemije i MDS-a, ali utječe i na granulocitno/monocitnu lozu te megakariocitnu lozu.[42–44] Gomez i suradnici pokazali su da razina izražaja miR-125a obrnuto proporcionalno korelira s preživljenjem bolesnika s MDS-om, a slično vrijedi i za cirkulirajuće miR-99b i let-7e.[45]

Pojačan izražaj miR-205-5p može pospješiti razvoj MDS-a potičući stanični rast i inhibirajući izražaj tumorskih supresora kao što je pokazano u radu Jang Sook Jina i suradnika. Autori su analizirali 65 bolesnika s MDS-om i 11 zdravih kontrola, a razine miRNK određivane su u aspiratu koštane srži. Izražaj miRNK 205-5p bio je 12,5 puta jači kod bolesnika s MDS-om u odnosu prema kontroli. U grupi bolesnika s MDS-om razina miRNK-205-5p bila je znatnije povišena pri MDS-u niskog rizika u odnosu prema visokorizičnomu. Stoga autori zaključuju da miRNK-205-5p može biti onkogen u MDS-u niskog rizika.[47]

Navedeni su miRNK-i potencijalni prognostički parametri koji bi se mogli rabiti u kliničkoj praksi s obzirom na to da cirkuliraju stabilni u perifernoj krvi. Zasad još nema rezultata o primjeni antagonista miRNK (antagomiRi), miRNK-mimetika ili „miRNK--spužava" u MDS-u koji utječu na putove povezane s miRNK vežući se ili blokirajući onkogene miRNK-e.

Dosadašnja dinamička istraživanja miRNK pokušavaju odgovoriti na pitanja koliko njihov izražaj može biti koristan u kliničkoj praksi, ali i kako iskoristiti miRNK u liječenju hematoloških poremećaja kontrolirajući izražaj njihovih ciljnih gena. Inhibiranjem određenih miRNK može doći do redukcije tumorske proliferacije.[48–53]

Prvi mikroRNK biofarmaceutik jest MRX34, trenutačno jedini čija se djelotvornost ispituje u onkološkim kliničkim istraživanjima (faza 1).[54]

Područje istraživanja ovih malenih, nekodirajućih miRNK golemo je i raste iz dana u dan donoseći nam nove spoznaje o njihovoj važnosti u patogenezi različitih tumora.

LITERATURA

1. *Brunning RD, Orazi A, Germing U.* Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. U: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL i sur. (ur.). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC Press; 2008.
2. *Ma X, Does M, Raza A, Mayne ST.* Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. Cancer 2007;109:1536–42.
3. *Adès L, Itzykson R, Fenaux P.* Myelodysplastic syndromes. Lancet 2014:383(9936):2239–52.
4. *Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J i sur.* Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. Blood 2012;120:2454–65.
5. *Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L i sur.*; Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. Blood 2013;122:3616–27.
6. *Visconte V, Tiu RV, Rogers HJ.* Pathogenesis of myelodysplastic syndromes: an overview of molecular and non-molecular aspects of the disease. Blood Res 2014;49:216–27.
7. *Cazzola M, Della Porta MG, Malcovati L.* The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. Blood 2013;122: 4021–34.
8. *Chevillet JR, Lee I, Briggs HA, He Y, Wang K.* Issues and prospects of microRNA-based biomarkers in blood and other body fluids. Molecules 2014;19:6080–105.
9. *Faruq O, Vecchione A.* MicroRNA: diagnostic perspective. Front Med 2015;2:51.
10. *Bejar R, Steensma DP.* Recent developments in myelodysplastic syndromes. Blood 2014;124:2793–803.
11. *Vasilatou D, Papageorgiou SG, Dimitriadis G, Pappa V.* Epigenetic alterations and microRNAs: new players in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes. Epigenetics 2013;8: 561–70.
12. *Acunzo M, Romano G, Wernicke D, Croce CM.* MicroRNA and cancer – A brief overview. Adv Biol Regul 2015;57:1–9.
13. *Allegra A, Alonci A, Campo S i sur.* Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer. Int J Oncol 2012;41(6):1897–912.

14. *Issa JP.* The myelodysplastic syndrome as a prototypical epigenetic disease. Blood 2013;121:3811–7.
15. *Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V i sur.* Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. Leukemia 2014;28:241–7.
16. *Rhyasen GW, Starczynowski DT.* Deregulation of microRNAs in myelodysplastic syndrome. Leukemia 2012;26:13–22.
17. *Chen C.* MicroRNAs in myelodysplastic syndromes: how much do we know and not know? Leuk Res 2013;37:241–2.
18. *Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M i sur.* Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:15524–9.
19. *Yeh CH, Moles R, Nicot C.* Clinical significance of microRNAs in chronic and acute human leukemia. Mol Cancer 2016; 15(1):37.
20. *Moussay E, Wank K, Cho JH i sur.* MicroRNA as biomarkers and regulators in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Proc Nat Acad Sci 2011;108(16):6573-8.
21. *Stamatopoulos B, Van Damme M, Crompot E i sur.* Opposite Prognostic Significance of Cellular and Serum Circulating MicroRNA-150 in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. Mol Med 2015;21(1):123–33.
22. *Di Leva G, Garofalo M, Croce CM.* MicroRNAs in cancer. Annu Rev Pathol 2014;9:287–314.
23. *Macfarlane LA, Murphy PR.* MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. Curr Genomics 2010;11(7):537–61.
24. *Berindan-Neagoe I, Monroig P, Pasculli B, Calin GA.* MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy. CA Cancer J Clin 2014;64:311–36.
25. *Zuo Z, Calin GA, de Paula HM i sur.* Circulating microRNAs let-7a and miR-16 predict progression-free survival and overall survival in patients with myelodysplastic syndrome. Blood 2011;118:413–5.
26. *Tagawa H.* MicroRNA in Malignant Lymphoma. Adv Exp Med Biol 2015;889:41–50.
27. *Wang Y, Sun D, Wang J, Dou A, Zheng C.* Predictive value of microRNAs as novel biomarkers in detection of lymphoma. Int J Clin Exp Med 2015;8(8):14479–89.
28. *Wang G, Zhao R, Zhao X i sur.* MicroRNA-181a enhances the chemotherapeutic sensitivity of chronic myeloid leukemia to imatinib. Oncol Lett 2015;10(5):2835–41.
29. *Jurkovicova D, Lukackova R, Magyerkova M i sur.* MicroRNA expression profiling as supportive diagnostic and therapy prediction tool in chronic myeloid leukemia. Neoplasma 2015;62(6):949–58.
30. *Rossi M, Tagliaferri P, Tassone P.* MicroRNAs in multiple myeloma and related bone disease. Ann Transl Med 2015;3(21):334.
31. *Zhang J, Xiao X, Liu J.* The role of circulating miRNAs in multiple myeloma. Sci China Life Sci 2015;58(12):1262–9.
32. *Giza DE, Calin GA.* MicroRNA and Chronic Lymphocytic Leukemia. Adv Exp Med Biol 2015;889:23–40.
33. *Hussein K, Theophile K, Büsche G i sur.* Aberrant microRNA expression pattern in myelodysplastic bone marrow cells. Leuk Res 2010;34:1169–74.
34. *Balatti V, Pekarky Y, Croce CM.* Role of microRNA in chronic lymphocytic leukemia onset and progression. J Hematol Oncol 2015;8:12.
35. *Liu L, Chen R, Zhang Y, Fan W, Xiao F, Yan X.* Low expression of circulating microRNA-328 is associated with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia. Diagn Pathol 2015;10:109.
36. *Shibayama Y, Kondo T, Ohya H, Fujisawa S, Teshima T, Iseki K.* Upregulation of microRNA-126-5p is associated with drug resistance to cytarabine and poor prognosis in AML patients. Oncol Rep 2015;33(5):2176–82.
37. *Pons A, Nomdedeu B, Navarro A i sur.* Hematopoiesis-related microRNA expression in myelodysplastic syndromes. Leuk Lymphoma 2009;50:1854–9.
38. *Dostalova Merkerova M, Krejcik Z, Votavova H, Belickova M, Vasikova A, Cermak J.* Distinctive microRNA expression profiles in CD34+ bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndrome. Eur J Hum Genet 2011;19:313–9.
39. *Erdogan B, Facey C, Qualtieri J i sur.* Diagnostic microRNAs in myelodysplastic syndrome. Exp Hematol 2011;39:915–26.
40. *Choi JS, Nam MH, Yoon SY, Kang SH.* MicroRNA-194-5p could serve as a diagnostic and prognostic biomarker in myelodysplastic syndromes. Leuk Res 2015;39:763–8.
41. *Zuo Z, Maiti S, Hu S i sur.* Plasma circulating-microRNA profiles are useful for assessing prognosis in patients with cytogenetically normal myelodysplastic syndromes. Mod Pathol 2015;28:373–82.
42. *Kim Y, Cheong JW, Kim YK i sur.* Serum microRNA-21 as a Potential Biomarker for Response to Hypomethylating Agents in Myelodysplastic Syndromes. PLoS One 2014;9(2).
43. *Sokol L, Caceres G, Volinia S i sur.* Identification of a risk dependent microRNA expression signature in myelodysplastic syndromes. Br J Haematol 2011;153:24–32.
44. *de Leeuw DC, Denkers F, Olthof MC i sur.* Attenuation of microRNA-126 expression that drives CD34+38-stem/progenitor cells in acute myeloid leukemia leads to tumor eradication. Cancer Res 2014;74(7):2094–105.
45. *Liao R, Xu Y, Chen M, Chen X, Zhan X, Sun J.* Molecular mechanism of microRNA involvement in genesis of myelodysplastic syndrome and its transformation to acute myeloid leukemia. Hematology 2013;18:191–7.
46. *Banzhaf-Strathmann J, Edbauer D.* Good guy or bad guy: the opposing roles of microRNA 125b in cancer. J Cell Commun Signal 2014;12:30.
47. *Jang SJ, Choi IS, Park G i sur.* MicroRNA-205-5p is upregulated in myelodysplastic syndromes and induces cell proliferation via PTEN suppression. Leuk Res 2016;47:172–7.
48. *Di Leva G, Garofalo M, Croce CM.* MicroRNAs in cancer. Annu Rev Pathol 2014;9:287–314.
49. *Milunović V, Mandac Rogulj I, Planinc-Peraica A, Bulycheva E, Ostojić Kolonić S.* The role of microRNA in myelodysplastic syndromes: beyond DNA methylation and histone modification. Eur J Haematol 2016;10:2776.
50. *Dostalova Merkerova M, Hrustincova A, Krejcik Z i sur.* Microarray profiling defines circulating microRNAs associated with myelodysplastic syndromes. Neoplasma 2017;64:571–8.
51. *Wen J, Huang Y, Li H i sur.* Over-expression of miR-196b-5p is significantly associated with the progression of myelodysplastic syndrome. Int J Hematol 2017;105(6):777–83.
52. *Setijono SR, Kwon HY, Song SJ.* MicroRNA, an Antisense RNA, in Sensing Myeloid Malignancies. Front Oncol 2018;7:331.
53. *Szymczyk A, Macheta A, Podhorecka M.* Abnormal microRNA expression in the course of hematological malignancies. Cancer Manag Res. 2018;10:4267–77.
54. *Beg MS, Brenner AJ, Sachdev J i sur.* Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. Invest New Drugs 2017; 35(2):180–8.

Liječ Vjesn 2019;141:238–246
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-31

Pregled | Review

Prognostički čimbenici u mijelodisplastičnom sindromu: iskustvo jednog centra

Prognostic factors in myelodysplastic syndromes: single-center experience

Vibor Milunović[1], Inga Mandac Rogulj[1], Dražen Perica[2], Karla Mišura Jakobac[1], Njetočka Gredelj Šimec[1], Anita Škrtić[2,3], Ika Kardum-Skelin[2,4], Sanja Davidović Mrsić[5], Slobodanka Ostojić Kolonić[1,2]✉

[1] Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[2] Medicinski fakultet u Zagrebu, Sveučilište u Zagrebu
[3] Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[4] Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Klinička bolnica Merkur, Zagreb
[5] Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb

Deskriptori
MIJELODISPLASTIČNI SINDROMI – genetika, klasifikacija, krv, smrtnost; CITOGENETSKA ANALIZA; MEĐUNARODNA KLASIFIKACIJA BOLESTI; ANEMIJA – komplikacije; ANALIZA PREŽIVLJENJA; ČIMBENICI RIZIKA; PROGNOZA

SAŽETAK. *Uvod:* Mijelodisplastični sindrom (MDS) jedna je od najčešćih klonskih hematoloških neoplastičnih neoplazma starije dobi karakterizirana jednom ili s više citopenija te ograničenim terapijskim rješenjima. Cilj je ovog rada bila retrospektivna analiza klasičnih prognostičkih čimbenika kod bolesnika dijagnosticiranih u jednom centru. Kao glavni ishod uzeto je ukupno preživljenje (engl. *Overall survival* – OS) definirano kao smrt od posljedica same bolesti ili nekoga drugog uzroka. *Metode:* Retrospektivno smo analizirali povijesti bolesti svih bolesnika dijagnosticiranih u jednom centru u razdoblju od 1. siječnja 2013. do 31. prosinca 2016. godine. *Rezultati:* U istraživanje je uključeno ukupno 58 bolesnika s medijanom dobi od 69 godina. Nakon medijana praćenja od 12 mjeseci medijan OS-a iznosio je 17 mjeseci s procijenjenom trogodišnjom stopom OS-a od 25%. U analizi prognostičkih čimbenika zbrojevi rizične stratifikacije prema IPSS-u, R-IPSS-u i WPSS-u bili su statistički značajni te su jasno diskriminirali OS ispitanika s nižim rizikom u odnosu prema OS-u ispitanika s visokom rizikom, no zbog malenog broja bolesnika nije bilo moguće odgovoriti na pitanje koji je bodovni sustav najprikladniji u ovoj populaciji. Citogenetičke kategorije prema IPSS-u i R-IPSS-u bile su statistički značajni prediktori OS-a. Usprkos statističkoj tendenciji morfološke karakteristike (podtip MDS-a, broj blasta u koštanoj srži) nisu se pokazale statistički značajnim čimbenicima prognoze u ovih bolesnika. Od kliničkih karakteristika jedino su prisutnost anemije i njezina težina, odnosno transfuzijska ovisnost bile znatno povezane s lošijim ishodom. *Zaključak:* Na našoj kohorti bolesnika većina tradicionalnih faktora pokazala se važnom u skladu s literaturnim podacima.

Descriptors
MYELODYSPLATIC SYNDROMES – blood, classsification, genetics, mortality; CYTOGENETIC ANALYSIS; INTERNATIONAL CLASSIFICATION OF DISEASES; ANEMIA – complications; SURVIVAL ANALYSIS; RISK FACTORS; PROGNOSIS

SUMMARY. *Introduction:* Myelodysplastic syndrome (MDS) is one of the most common myeloid neoplasms of elderly characterized by cytopenias and limited therapeutic options. The main aim of this retrospective single-center study was to examine the value of classical prognostic factors. The main outcome of the study was overall survival (OS) defined as death from MDS or any other reason. *Methods:* We analyzed the medical records of patients diagnosed with MDS at single centre in the period from beginning of 2013 to the end of 2016. *Results:* Total of 58 patients (median age of diagnosis being 69 years) were included in the study. After median of follow-up of 12 months, median OS was 17 months and estimated 3-year OS rate 25%. Classical prognostic systems such as IPSS, WPSS and R-IPSS were statistically significant prognostic factors discriminating adequately between low and high risk groups in terms of outcome. However , due to small sample size, we were not able to distinguish the most appropriate scoring system. The cytogenetics subgroups according to IPPS and R-IPSS were significant predictors of outcomes underlying its crucial role in MDS diagnosis. Despite the statistical tendency morphological features of MDS (2008 World Health Organization subtype and number of blasts in bone marrow) were not significant predictors of OS. Among clinical features, only presence and degree of anemia and transfusion dependency were significant predictors of inferior survival. *Conclusion:* The majority of traditional prognostic factors were significant in our cohort in concordance with literature review.

Mijelodisplastični sindrom (MDS) jedna je od najčešćih hematoloških novotvorevina starije dobi karakterizirana citopenijama i displazijom jedne ili više loza u koštanoj srži.[1] Dijeli se na više podtipova različite prognoze koji su redefinirani novom klasifikacijom Svjetske zdravstvene organizacije iz 2016. godine.[2] Godišnja je incidencija MDS-a 4,5 na 100.000 muškaraca

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prof. dr. sc. Slobodanka Ostojić Kolonić,
Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KB Merkur,
I. Zajca 19, 10000 Zagreb;
e-mail: ostojić@net.hr

Primljeno 6. svibnja 2019., prihvaćeno 1. srpnja 2019.

i 2,7 na 100.000 žena s medijanom dobi pri dijagnozi od 76 godina u Sjedinjenim Američkim Državama i očekivanim trogodišnjim ukupnim preživljenjem (engl. *Overall survival* – OS) od samo 35% u razdoblju od 2000. do 2003. godine pa se očekuje da će ovaj poremećaj biti dijagnosticiran u više od 10.000 pojedinaca na godinu.[3] Većina bolesnika umrijet će od posljedica same bolesti, najčešće od njezine transformacije u sekundarnu akutnu mijeloičnu leukemiju (engl. *Secondary acute myelogenous leukemia* – sAML), i to njih 46,6% kako je pokazala retrospektivna analiza provedena na 2877 bolesnika.[4] Ostali vodeći uzroci smrti jesu infekcije (27%) ili krvarenje (9,8%).

Jedina kurativna opcija u MDS-u jest alogena transplantacija krvotvornih matičnih stanica (ATKMS), s petogodišnjim OS-om od 43%, no bolesnici većinom zbog dobi ili komorbiditeta nisu kandidati za postupak.[5] Drugu opciju liječenja čine hipometilirajući lijekovi 5-azacitidin i decitabin. Za razliku od decitabina, 5-azacitidin zaživio je u kliničkoj praksi na temelju studije AZA001 koja je uspoređivala 5-azacitidin u visokorizičnome MDS-u naspram konvencionalnoj skrbi (niske doze citarabina, potporno liječenje) te je pokazala bolji medijan OS-a (24,5 prema 15 mjeseci). Na osnovi te studije 5-azacitidin odobrila je Europska agencija za lijekove.[6,7]

Osnovni klinički pristup MDS-u jest stratifikacija rizika prema nekom od prognostičkih indeksa. Najčešće je u uporabi IPSS (engl. *International Prognostic Scoring System*) koji uključuje citogenetički nalaz, broj blasta u koštanoj srži i broj citopenija.[8] Originalni IPSS validiran je na 816 bolesnika, a izdvojene su četiri kategorije rizika: niski rizik, intermedijarni rizik 1, intermedijarni rizik 2 te visoki rizik s razlikama u ukupnom preživljenju i transformaciji u sAML. Primjerice, medijan OS-a za bolesnika s niskim rizikom iznosio je 5,7 godina naspram samo 0,4 godine za bolesnike visokog rizika. Prognostički bodovni sustav rizika Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organisation Prognostic System Score* – WPSS), uz istu citogenetiku kao u IPSS-u, služi se samim podtipom MDS-a prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije iz 2001. godine (poslije modificiranoj prema klasifikaciji iz 2008. godine) te kategorijom ovisnosti o transfuzijama krvnih derivata.[9,11] Na 271 bolesnika u inicijalnoj kohorti te 193 bolesnika u validacijskoj kohorti određeno je pet skupina prema riziku: vrlo niski, niski, intermedijarni, visoki i vrlo visoki rizik.

Kao treći i najpopularniji sistem stratifikacije rizika nametnuo se revidirani internacionalni prognostički bodovni sustav (engl. *Revised-International Prognostic System Score* – R-IPSS).[11] Model je uveo pet zasebnih citogenetičkih kategorija, uzeo je svaku citopeniju kao poseban rizični faktor te podijelio broj blasta u koštanoj srži u četiri skupine. Validiran je na 7012 bolesnika te je donio pet različitih kategorija rizika s obzirom na ishode (OS i leukemijsku transformaciju): jako niski rizik, niski rizik, intermedijarni rizik, visoki rizik i jako visoki rizik. Nadalje, pokazao se uspješnijim u prognozi ishoda od originalnog IPSS-a pa je tako ušao u svakodnevnu praksu premda se IPSS još rabi u Europskoj uniji iz administrativnih razloga davanja 5-azacitidina koji je indiciran u bolesnika s visokim ili intermedijarnim rizikom 2.[7]

Glavni je cilj ovog rada bilo istraživanje prognostičkih čimbenika ishoda u bolesnika s MDS-om u jednoj ustanovi, a primarno OS-a u skladu s prognostičkim čimbenicima iz literature: IPSS-om, R-IPPS-om i WPSS-om, citogenetikom prema IPSS-u i R-IPPS-u, citopenijama prema IPSS-u i R-IPSS-u, entitetima prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji iz 2008. godine te brojem blasta prema R-IPSS-u.

Metode

Ispitanici

Retrospektivno smo uključili sve bolesnike s dijagnosticiranim MDS-om u našoj ustanovi od 1. siječnja 2013. do 31. prosinca 2016. godine. Retrospektivno su analizirani podaci iz povijesti bolesti.

Uključni kriteriji bili su: dijagnoza MDS-a prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije iz 2008. godine[1] i dostupan kariogram.

Isključni kriteriji bili su: prisutnost paroksizmalne noćne hemoglobinurije, prisutnost aplastične anemije, nedostupan kariogram, MPS/MDS i AML s multilinijskom displazijom.

Kao moguće prognostičke čimbenike analizirali smo moguću povezanost IPSS-a, R-IPPS-a i WPSS-a.[8,9,11] U daljnjoj smo analizi kao moguće prognostičke čimbenike rabili citogenetiku prema IPSS-u i R-IPSS-u.[8,11] IPSS ima tri citogenetičke kategorije: dobra (uredan kariogram, -Y, del(5q), del(20q)), intermedijarna (sve ostale abnormalnosti) te loša (kompleksan kariogram, anomalije kromosoma 7). R-IPSS produbljuje citogenetičke kategorije te ih ima ukupno pet: jako dobra (-Y, del(11q)), dobra (normalan kariogram, del(5q), del(12p), del(20q), dvostruka uključujući del(5q)), intermedijarna (del(7q), +8, +19, i(17q), druge nespecificirane abnormalnosti), loša (-7, inv(3)/t(3q)/del(3q), dvostruka uključujući -7/del(7q), kompleksna s 3 abnormalnosti), jako loša (kompleksan kariogram s više od tri abnormalnosti). Kao mogući čimbenik ishoda analizirali smo citopenije prema IPSS-u i R-IPSS-u.[8,11] IPSS definira citopenije kao razinu hemoglobina nižu od 100 g/L, broj neutrofila manji od $1,8 \times 10^9$/L te broj trombocita manji od 100×10^9/L pa se citopenije zbrajaju. R-IPSS uzima u obzir težinu citopenija.

Anemija se definira u tri kategorije prema razini hemoglobina: jednaka ili viša od 100 g/L, između 100 i 80 g/L te niža od 80 g/L.

Neutropeniju definiraju dvije kategorije, odnosno broj neutrofila jednak ili veći od 0,8 × 10^9/L i broj neutrofila manji od 0,8 × 10^9/L. Trombocitopenija je definirana u tri kategorije: broj trombocita jednak ili veći od 100 × 10^9/L, broj trombocita između 100 i 50 × 10^9/L odnosno broj trombocita manji od 50 × 10^9/L. WPSS ne uzima u obzir citopenije, nego transfuzijsku ovisnost definiranu kao transfuziju jedne doze koncentrata eritrocita svakih 8 tjedana tijekom 4 mjeseca.[10] Kao jedan od mogućih čimbenika analizirali smo broj blasta u koštanoj srži prema IPSS-u i R-IPSS-u.[9,11] IPSS ima četiri kategorije prema broju blasta: manje od 5%, između 5 i 10%, između 11 i 20% te 21 i 30%. Bitno je napomenuti da je posljednja skupina isključena budući da je riječ o AML-u s multilinijskom displazijom. R-IPPS ima također četiri kategorije blasta u koštanoj srži, odnosno jednako ili manje od 2%, veće od 2% te manje od 5%, između 5 i 10% te veće od 10%. Kao jedan od mogućih prognostičkih čimbenika analizirali smo i entitet definiran prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije iz 2008. godine, to jest različite podtipove MDS-a (refraktorna citopenija s unilinijskom displazijom, refraktorna anemija s prstenastim sideroblastima, refraktorna citopenija s multilinijskom displazijom, refraktorna anemija s viškom blasta-1, refraktorna anemija s viškom blasta-2, neklasificirani MDS, MDS s izoliranim del(5q)).[10] Također, kao mogući čimbenik analizirali smo liječenje hipometilirajućim lijekom, odnosno 5-azacitidinom.

Istraživanje je provedeno sukladno 7. reviziji Helsinške deklaracije Svjetske medicinske organizacije te je identitet bolesnika bio zaštićen.[12]

Statistička analiza

Nakon deskriptivne statistike pri analizi ukupnog preživljenja koristili smo se Kaplan-Meierovim krivuljama. Prognostičke čimbenike testirali smo testom log-rank. Kao statistički značajna vrijednost uzeta je p-vrijednost niža od 0,05. Statistička obrada podataka izvedena je na programu *Statistical Package for the Social Sciences*, verzija 20.0 (IBM).[13]

Rezultati

U ispitivanje je uključeno ukupno 58 ispitanika. Osnovne karakteristike populacije prikazane su na tablici 1. Kao sljedeći korak svakom je bolesniku određen rizik prema indeksima IPSS-a, R-IPSS-a te WPSS-a. Navedeno je prikazano na tablici 2. Distribucija ispitanika na temelju citogenetičkog nalaza kariograma dobivenog iz aspirata koštane srži prema IPSS-u i R-IPSS-u prikazana je na tablici 3.

Medijan praćenja iznosio je 12 mjeseci (SD = 16,36; Min. = 0, Maks. = 64). Medijan OS-a dosegnut je, odnosno bilo je 59,4% smrtnih slučajeva te je iznosio 17 mjeseci za cijelu skupinu (slika 1.) Dosegnut je plato u krivulji te je 30,8% bolesnika živo nakon 37 mjeseci praćenja bez daljnjih događaja. Procijenjena stopa trogodišnjeg OS-a iznosila je 25%.

Tablica 1. Osnovna obilježja ispitivane kohorte
Table 1. Baseline characteristics of studied cohort

Varijabla/Variable		N
Dob pri dijagnozi (medijan) /Age at diagnosis (median)	69 godina /years	
Spol/Sex	M	34 (58,6%)
	Ž/F	24 (41,4%)
Podtip MDS-a /MDS subtype	RCUD	0 (0%)
	RARS	6 (10,3%)
	RCMD	20 (35,1%)
	RAEB 1	10 (17,2%)
	RAEB 2	19 (33,3%)
	MDS-U	0 (0%)
	MDS del(5q)	2 (3,5%)
Liječenje 5-azacitidinom /5-azacytidine treatment	Da	19 (36,5%)
	Ne	33 (63,5%)
Transfuzijska ovisnost /Transfusion dependence	Da	34 (38,2%)
	Ne	21 (61,8%)

RCUD – refraktorna citopenija s unilinijskom displazijom/refractory cytopenia with uniliniage dysplasia; RARS – refraktorna anemija s prstenastim sideroblastima/refractory anemia with ring sideroblasts; RCMD – refraktorna citopenija s multilinijskom displazijom/refractory cytopenia with multilineage dysplasia, RAEB 1 – refraktorna anemija s viškom blasta tipa 1/refractory anemia with excess blasts type 1; RAEB 2 – refraktorna anemija s viškom blasta tipa 2/refractory anemia with excess blast type 2; MDS-U – neklasificirani mijelodisplastični sindrom/myelodysplatic synrome, unclassified; MDS del(5q) – mijelodisplastični sindrom s del(5q)/myelodysplatic syndrome with 5 deletion

U daljnjoj su analizi kao mogući prognostički čimbenici analizirani IPSS, R-IPSS i WPSS. IPSS se pokazao statistički značajnim čimbenikom (χ^2 = 11,95; DF = 3; p = 0,008), što je prikazano na slici 2. Najbolju prognozu imali su bolesnici s niskim rizikom u kojih medijan OS-a nije dosegnut. Za bolesnike s intermedijarnim rizikom 1 medijan OS-a iznosio je 19 mjeseci, dok je za intermedijarni rizik 2 odnosno visoki rizik medijan OS-a iznosio 12 mjeseci. R-IPSS također se pokazao kao statistički značajan prognostički čimbenik OS-a (χ^2 = 13,56; DF = 4; p = 0,009), što je prikazano na slici 3. Medijan OS-a u bolesnika s vrlo niskim ili niskim rizikom nije dosegnut, odnosno za intermedijarni rizik iznosio je 15 mjeseci, za visoki rizik 12 mjeseci, a za vrlo visoki rizik 13 mjeseci. U daljnjoj analizi grupirali smo bolesnike u dvije skupine prema R-IPPS-u. Prva je skupina uključivala bolesnike s vrlo niskim ili niskim rizikom odnosno intermedijarnim rizikom, dok je druga skupina uključivala bolesnike s ostalim kategorijama rizika prema R-IPSS-u. Medijan

Tablica 2. Distribucija ispitivane kohorte prema prognostičkim bodovnim sustavima za mijelodisplastični sindrom

Table 2. Distribution of studied cohort according to prognostic scoring systems for myelodysplastic syndromes

Prognostički bodovni sustav /Prognostic score	Rizik/Risk	Distribucija /Distribution (N)
IPSS	Niski/Low	11 (19%)
	Intermedijarni-1 /Intermediate-1	25 (43,1%)
	Intermedijarni-2 /Intermediate-2	13 (22,4%)
	Visoki/High	9 (15,5%)
WPSS	Vrlo niski/Very low	11 (19%)
	Niski/Low	23 (39,7%)
	Intermedijarni /Intermediate	10 (17,2%)
	Visoki/High	8 (13,8%)
	Vrlo visoki/Very high	6 (10,3%)
R-IPSS	Vrlo niski/Very low	11 (19%)
	Niski/Low	10 (17,2%)
	Intermedijarni /Intermediate	13 (22,4%)
	Visoki/High	10 (17,2%)
	Vrlo visoki/Very high	14 (24,1%)

Tablica 3. Distribucija ispitivane kohorte s obzirom na citogenetički nalaz kariograma iz koštane srži prema IPSS-u i R-IPSS-u

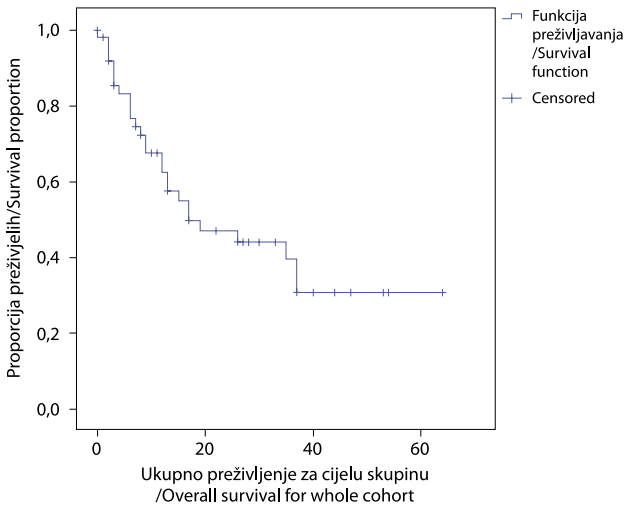
Table 3. Distribution of studied cohort according to cytogenetical analysis from bone marrow aspirate accoring to IPSS and R-IPSS scoring systems

Kariogram /Karyotype	Rizik/Risk	Distribucija /Distribution (N)
IPSS	Dobar/Good	30 (51,7%)
	Intermedijarni /Intermediate	14 (24,1%)
	Loš/Poor	14 (24,1%)
R-IPSS	Jako dobar/Very good	0 (0%)
	Dobar/Good	31 (53,4%)
	Intermedijarni /Intermediate	15 (25,9%)
	Loš/Poor	2 (3,4%)
	Jako loš/Very poor	10 (17,2%)

OS-a u prvoj skupini nije dosegnut, dok je za drugu skupinu iznosio 13 mjeseci. Ta je razlika bila statistički značajna (χ^2 = 11,01; DF = 1; p = 0,001). U drugoj analizi prema R-IPPS-u skupini visokog ili vrlo visokog rizika pridružena je skupina intermedijarnog rizika naspram prvoj skupini niskog ili vrlo niskog rizika. Također je pokazana statistički značajna razlika u OS-u (χ^2 = 8,18; DF = 1; p = 0,004), s medijanom preživljenja koji u prvoj skupini nije dosegnut naspram 13 mjeseci u drugoj skupini. Sljedeća analiza prema R-IPSS-u uključivala je tri skupine: intermedijarni rizik kao poseban entitet naspram dvjema koje su uključivale niski i vrlo niski rizik odnosno visoki i vrlo visoki rizik. Medijan OS-a u skupini niskog rizika nije dosegnut naspram medijanu OS-a od 15 mjeseci za intermedijarni rizik i 12 mjeseci za visoki rizik. Ta je razlika također bila statistički značajna (χ^2 = 12,57; DF = 2; p = 0,002). Kao posljednji prognostički zbroj analizirali smo WPSS. Dobivena je statistički značajna razlika u OS-u (χ^2 = 13,73; DF = 4; p = 0,008), što je prikazano na slici 4. Pri posljednjoj analizi s pomoću Kendallova tau-koeficijenta izračunana je korelacija između samih prognostičkih indeksa, koja je prikazana na tablici 4. IPSS i WPSS imaju veću pozitivnu korelaciju, vjerojatno zbog iste citogenetičke kategorizacije, za razliku od R-IPSS-a koji i dalje snažno korelira s ostalim indeksima, ali u manjoj mjeri.

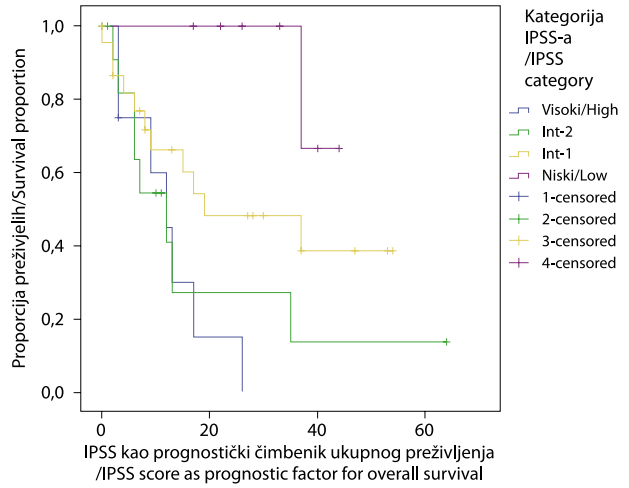
Kao moguće prognostičke čimbenike analizirali smo citogenetičke nalaze kariograma iz aspirata koštane srži prema klasifikaciji IPSS-a i R-IPSS-a. Citogenetičke skupine prema IPSS-u bile su statistički granično značajan prognostički čimbenik OS-a (χ^2 = 6,1; DF = 2; p = 0,047), što je prikazano na slici 5. Medijan OS-a za ispitanike u citogenetički dobroj skupini nije dosegnut, dok je za ispitanike u intermedijarnoj i lošoj citogenetičkoj skupini iznosio 13 mjeseci. Citogenetičke kategorije prema R-IPSS-u također su bile statistički značajan prognostički čimbenik (χ^2 = 9,15; DF = 3; p = 0,027), što je prikazano na slici 6. Medijan OS-a u citogenetički dobroj skupini nije dosegnut, dok je za intermedijarnu skupinu iznosio 19 mjeseci, za lošu 7 mjeseci, a za jako lošu 9 mjeseci.

Kao jedan od mogućih prognostičkih faktora OS-a analizirali smo podtip MDS-a prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije iz 2008. godine.[1] Razlika se nije pokazala usprkos statistički značajnoj tendenciji (χ^2 = 8,94; DF = 4; p = 0,062). U daljnjoj analizi ispitali smo razliku ispitanika s RAEB 1 i RAEB 2 naspram ostalim entitetima. Usprkos jasnom razdvajanju krivulja (nije prikazano na slici) razlika nije bila statistički značajna (χ^2 = 2,11; DF = 1; p = 0,145). Analizirajući podtip MDS-a prema WPSS-u pokazali smo statistički graničnu razliku u preživljenju (χ^2 = 7,72; DF = 3; p = 0,05). Najbolji ishod imali su bolesnici s refraktornom anemijom s prstenastim sideroblastima, a najgori ishod bolesnici s RAEB 2. S obzirom na to da broj blasta u koštanoj srži ulazi kao jedan od parametara u IPSS i R-IPSS, analizirali smo moguću poveza-



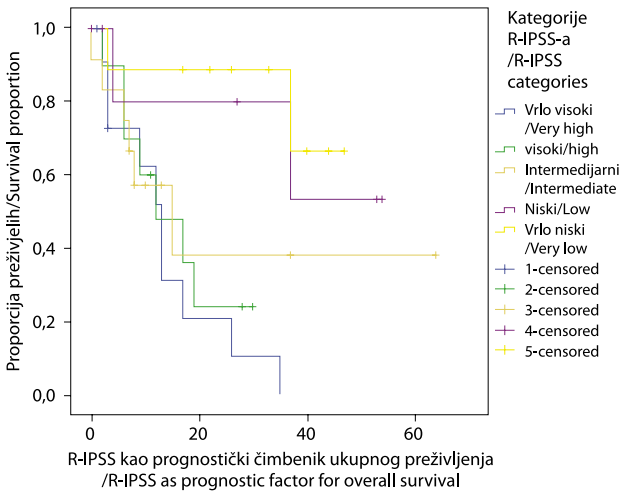
Slika 1. Ukupno preživljenje svih ispitanika kohorte u mjesecima

Figure 1. Overall survival for whole cohort in months



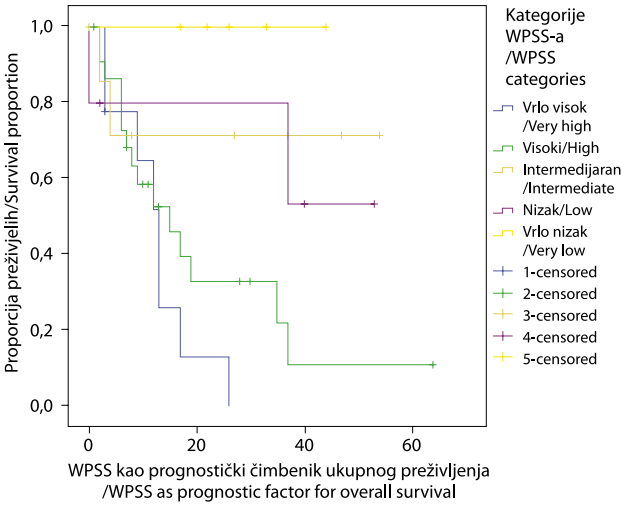
Slika 2. Ukupno preživljenje prema kategorijama rizika IPSS-a

Figure 2. Overall survival according to IPSS risk categories



Slika 3. Ukupno preživljenje prema kategorijama rizika R-IPSS-a

Figure 3. Overall survival according to R-IPSS risk categories



Slika 4. Ukupno preživljenje prema kategorijama rizika WPSS-a

Figure 4. Overall survival according to WPSS risk categories

nost tog parametra s ishodom ispitanika prema kategorijama R-IPSS-a. Razlika u ishodu nije bila statistički značajna (χ^2 = 5,4; DF = 3; p = 0,45). Radi daljnje analize ispitanike smo izdvojili u dvije skupine. Prva je skupina imala manje od 5% blasta u koštanoj srži naspram drugoj skupini s više od 4% blasta. Usprkos tendenciji i razdvajanju krivulja razlika se nije pokazala statistički značajnom (χ^2 = 3,32; DF = 1; p = 0,068). U drugoj analizi grupirali smo bolesnike u dvije skupine. Prva je skupina imala više od 10% blasta, dok se druga skupina sastojala od svih drugih kategorija prema R-IPSS-u. Prva skupina imala je medijan preživljenja od 12 mjeseci, a druga medijan OS-a od 37 mjeseci. Ta je razlika bila statistički značajno granična (χ^2 = 3,81; DF = 1; p = 0,05).

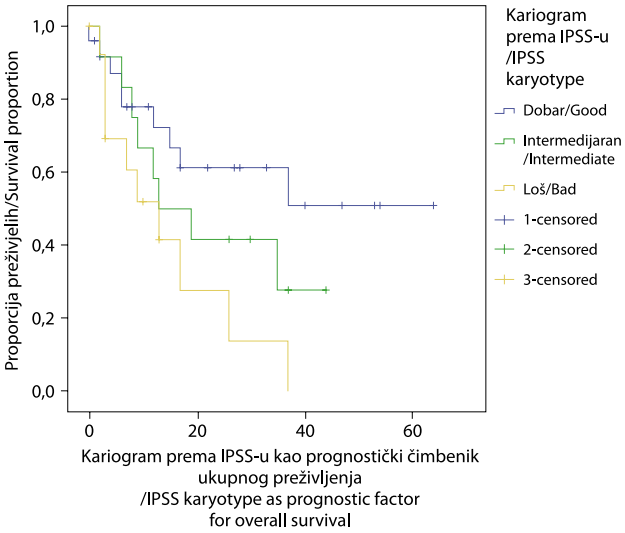
Analizirali smo i citopenije kao mogući prognostički čimbenik u MDS-u. U prvoj analizi upotrijebili smo broj citopenija prema IPSS-u, što se nije pokazalo statistički značajnim (χ^2 = 0,14; DF = 1; p = 0,703). U drugoj analizi koristili smo se definicijom i težinom svake pojedinačne citopenije prema R-IPSS-u. Za razliku od neutropenije (χ^2 = 2,17; DF = 1; p = 0,141) i trombocitopenije (χ^2 = 1,96; DF = 2; p = 0,374), anemija se pokazala kao statistički značajan prognostički čimbenik OS-a (χ^2 = 6,5; DF = 2; p = 0,039). Bolesnici s razinom hemoglobina iznad 100 g/L imali su medijan preživljenja od 35 mjeseci, za razliku od bolesnika s inicijalnom vrijednosti između 80 i 100 g/L u kojih je medijan OS-a iznosio 17 mjeseci. Najgori ishod imali su bole-

Tablica 4. Međusobna povezanost IPSS-a, WPSS-a i R-IPSS-a izražena Kendallovim tau-korelacijskim koeficijentom

Table 4. Association between IPSS, WPSS and R-IPSS estimated as Kendall Tau correlation coefficient

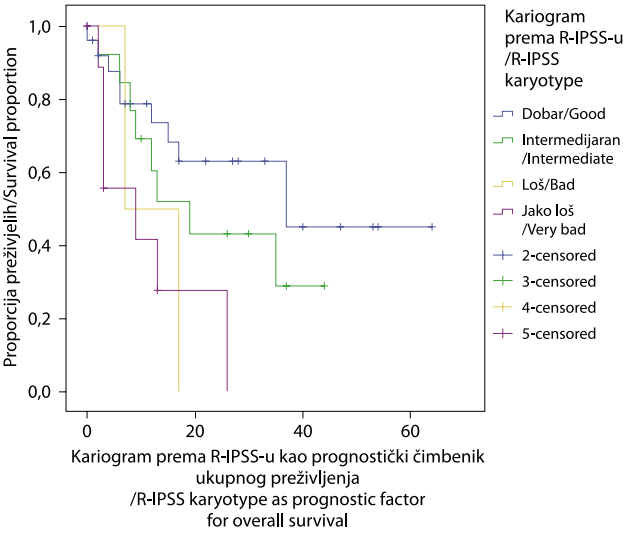
	IPSS	WPSS	R-IPSS
IPSS	1*	0,821*	0,761*
WPSS	0,821*	1*	0,797*
R-IPSS	0,761*	0,797	1*

*p < 0,01



Slika 5. Ukupno preživljenje s obzirom na kariogram prema IPSS-u

Figure 5. Overall survival according to IPPS karyotype subgroups



Slika 6. Ukupno preživljenje s obzirom na kariogram prema R-IPSS-u

Figure 6. Overall survival according to R-IPSS karyotype subgroups

snici s inicijalnom vrijednosti hemoglobina nižom od 80 g/L – s medijanom OS-a od samo 3 mjeseca. U prilog nalazu da je anemija prognostički čimbenik govori i to što je ovisnost o transfuzijama krvnih derivata jasno i statistički značajno diskriminirala ishode (χ^2 = 5,44; DF = 1; p = 0,02). U bolesnika koji nisu bili transfuzijski ovisni medijan OS-a nije dosegnut, za razliku od medijana od 13 mjeseci u bolesnika ovisnih o transfuzijama.

Što se tiče aktivnog liječenja radi modifikacije prirode MDS-a, ukupno 19 bolesnika liječeno je 5-azacitidinom. U našoj kohorti sámo liječenje 5-azacitidinom nije bilo povezano s boljim ishodima tih bolesnika (χ^2 = 0,993; DF = 1; p = 0,319). Zatim smo analizirali je li liječenje 5-azacitidinom povezano s boljim ishodima prema skupinama IPSS-a, no ni ta razlika nije bila statistički značajna.

Rasprava

U svojoj skupini bolesnika s MDS-om pokazali smo da MDS ima lošu prognozu s medijanom preživljenja od 17 mjeseci i ukupnom trogodišnjom stopom OS-a od 25%, što je usporedivo s rezultatima Maa i suradnika na američkim ispitanicima koji su pokazali 3-godišnji OS od 35% za ispitivanu populaciju (N = 7137).[3] Prema europskim podacima iz epidemiološkog projekta EUROCARE-5, u razdoblju između 2006. i 2008. godine trogodišnji OS mnogo je povoljniji te iznosi 48,8%.[14]

Unatoč malom medijanu preživljenja u Kaplan-Meirovoj krivulji prikazanoj na slici 1. postignut je plato, što indicira da oko 30% bolesnika ima indolentniji tijek bolesti. S obzirom na to da u ovoj retrospektivnoj studiji nismo određivali jasan uzrok smrti ispitanika, odnosno nismo analizirali je li smrtni ishod bio povezan s komplikacijom samog MDS-a ili nekim drugim komorbiditetom, ne možemo jasno zaključiti da je stopa OS-a jasno povezana sa samom bolešću premda, prema literaturnim podacima, većina bolesnika umire od prirodnog tijeka MDS-a, odnosno njegove transformacije u sAML ili neke druge komplikacije.[4]

U našoj je kohorti medijan dobi pri dijagnozi (69 godina) nešto niži od medijana dobi dijagnoze (76 godina) prema američkoj epidemiološkoj studiji.[3]

Prognostički bodovni indeksi kao čimbenici rizika u MDS-u

Kao što se očekivalo, sva tri prognostička bodovna indeksa (IPSS, R-IPPS i WPSS) (slike 2., 3. i 4.) bila su statistički značajni prognostički čimbenici u kohorti, no s individualnim razlikama ovisno o upotrijebljenom zbroju. IPSS i R-IPSS imali su sličnu distribuciju ispitanika u visokorizičnim skupinama, za razliku od WPSS-a u kojem su bolesnici pretežito podijeljeni u skupine niskog rizika, što je prikazano na tablici 2. To se može objasniti činjenicom da WPSS, za razliku od

ostalih indeksa, rabi dvije drugačije varijable: podtip MDS-a prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije iz 2001., odnosno transfuzijsku ovisnost.[1,9] Kako bi se WPSS poboljšao, Della Porta i suradnici revidirali su ga 2015. godine tako što su preuzeli citogenetičke kategorije iz R-IPPS-a i zamijenili transfuzijsku ovisnost jasno definiranom anemijom (razina hemoglobina niža od 90 g/L za muškarce odnosno niža od 80 g/L za žene), sa sličnom prognostičkom moći kao što je ona R-IPSS-a.[15] Na našem su uzorku sva tri prognostička indeksa jasno razdvojila bolesnike niskog rizika s obzirom na ishod, u kojih medijan OS-a nije dosegnut zbog kratkog praćenja. Za razliku od toga, čini se da indeksi nisu toliko jasno razdvajali visokorizične skupine s obzirom na ishod. Primjerice, medijan OS-a prema IPSS-u bio je jednak u skupine intermedijarnog rizika 2 i visokorizične skupine, dok za R-IPSS nije jasno razlikovao skupine s obzirom na visoki ili vrlo visoki rizik. Vjerojatni razlog tomu jest malen broj bolesnika prema skupinama, jer je na većim kohortama bolesnika medijan OS-a za skupinu intermedijarnog rizika 2 prema IPSS-u odnosno visokorizičnu skupinu iznosio 1,3 godine odnosno 0,75 godina.[16] U jednoj od validacijskih studija R-IPSS-a medijan OS-a za skupinu visokog rizika iznosio je 1,66 godina, a za skupinu vrlo visokog rizika 1,02 godine, s jasnom diskriminativnom moći između tih skupina, za razliku od skupina niskih rizika (HR = 0,57).[17]

Savić i sur. u svojoj kohorti nisu našli statistički značajnu razliku između MDS-a visokog rizika i vrlo visokog rizika.[18] Drugi čimbenik R-IPSS-a o kojemu se raspravlja jest priroda bolesti bolesnika s intermedijarnim rizikom. U našoj analizi ta je skupina bila statistički značajna u sva tri scenarija, odnosno statistička značajnost dosegnuta je u udruženju skupina s niskorizičnim i visokorizičnim bolesnicima, kao i u slučaju samostalnoga prognostičkog čimbenika. Mishra i suradnici na kohorti bolesnika liječenih hipometilirajućim agensima pokazali su najveću kliničku korist u skupinama vrlo visokog i visokog rizika, za razliku od skupina intermedijarnog rizika.[19]

Prema literaturnom pregledu, većina autora preferira R-IPSS naspram ostalim bodovnim sustavima zbog rafiniranije definicije varijabla (težina citopenija, 5 citogenetičkih kategorija i 4 kategorije postotka blasta u koštanoj srži) te veće prediktivne moći u predviđanju ishoda bolesnika s MDS-om. Primjerice, Voso i sur. pokazali su višu prediktivnu vrijednost R-IPSS-a (omjer mogućnosti = 85) naspram vrijednostima OS-a od 74,4 za WPSS i 55,6 za IPSS na skupini od 662 bolesnika.[20] No, za razliku od IPSS-a, R-IPSS nije bio upotrijebljen u velikim registracijskim randomiziranim pokusima faze III pa IPSS, usprkos svojim nedostacima, ostaje rutinski prognostički bodovni sustav pri određivanju terapije hipometilirajućim lijekovima.[6,21]

Citogenetika kao čimbenik rizika u MDS-u

Citogenetičke kategorije prema IPSSS-u i R-IPSS-u sljedeći su važan prognostički čimbenik, što je prikazano na slikama 5. i 6. Kategorije prema IPSS-u nisu jasno diskriminirale ishode u skupini intermedijarnog rizika i lošoj skupini s obzirom na to da je medijan OS-a bio jednak za obje skupine. Schanz i suradnici na kohorti su od 2902 bolesnika s MDS-om pronašli 19 pojedinačnih citogenetičkih kategorija statistički značajno povezanih s OS-om i transformacijom u sAML.[22] Na tragu tih nalaza R-IPSS uveo je pet različitih citogenetičkih kategorija koje su statistički značajno predviđale OS na našem uzorku.

U usporedbi s originalnom studijom, ishodi u našoj skupini ispitanika bili su nešto lošiji s obzirom na citogenetičke kategorije.[9]

Postavlja se i pitanje budućnosti klasične citogenetike u MDS-u s obzirom na to da sve veći broj studija rabi sekvenciranje novije generacije pri određivanju profila MDS-a. U pivotalnoj studiji Haferlacha i suradnika na 944 ispitanika konstruiran je model od 13 gena koji su statistički značajno bili povezani s OS-om.[23] Pri daljnjoj analizi model je podijeljen u četiri skupine rizika s jasnom diskriminacijom rizika od smrtnog ishoda, odnosno trogodišnjom stopom OS-a od 83,3%, 66,4%, 39,7% i 9,5% za pojedinačne skupine rizika. S većom dostupnosti ove metode i razvojem personalizirane medicine klasična citogenetika mogla bi postati manje bitna u MDS-u.[24]

Morfološke karakteristike kao čimbenici rizika u MDS-u

Kao jedan od prognostičkih čimbenika analizirali smo podtip MDS-a prema klasifikaciji SZO-a iz 2008. godine.[1] U prvoj analizi svih skupina pokazana je statistička tendencija u preživljenju, no nije dosegnuta zadana statistička značajnost. Tek u analizi podtipova prema WPSS-u postignuta je statistički granična značajnost (p = 0,05). Tijekom praćenja u skupini sa sindromom RARS-a i del(5q) nije bilo smrtnih ishoda, vjerojatno zbog kraćeg praćenja, dok su RAEB I i II imali najgoru prognozu. Taj je nalaz u skladu s nalazom van Spronsena i suradnika koji su pokazali da klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije iz 2008. godine te Francusko-britansko-američka klasifikacija (FAB) iz 1982. godine imaju prediktivnu vrijednost u MDS-u, no ta se razlika izgubila u multivarijatnoj analizi s R-IPSS-om kao prognostičkim čimbenikom.[2,25–27] No, s obzirom na temeljnu promjenu klasifikacije MDS-a iz 2016. godine, pitanje same prediktivne vrijednosti morfologije ostaje otvoreno do završetka odgovarajućih velikih studija različitih grupacija MDS-a.

Kao drugi mogući morfološki prognostički čimbenik analizirali smo broj blasta u koštanoj srži pri dijagnozi. U analizu nismo uključili kategorije IPSS-a s

obzirom na to da se one temelje na FAB-ovoj klasifikaciji i entitetu RAEB T koji ima više od 20% blasta, što se, prema svim klasifikacijama Svjetske zdravstvene organizacije, karakterizira kao AML s multilinijskom displazijom.[1,26] Broj blasta prema kategorijama R-IPSS-a nije bio statistički značajan prognostički čimbenik, dok je u subanalizi skupine s manje od 5% blasta i skupina s jednako ili više od 5% blasta postojala statistička tendencija prema značajnosti (p = 0,068). Druga subanaliza pokazala je statistički granično značajnu razliku s lošijim ishodima u bolesnika s više od 10% blasta u koštanoj srži. Većina studija na velikom broju bolesnika potvrdila je broj blasta kao važan čimbenik ishoda tih bolesnika. Primjerice, od svih kliničkih parametara Međunarodne radne grupe za prognozu MDS-a broj blasta pokazao se kao najjači prognostički čimbenik u populaciji od 7212 bolesnika.[27] Zaključno, premda u svojem uzorku zbog malenog broja ispitanika nismo pokazali jasnu povezanost broja blasta i samog ishoda, literaturni pregled govori u prilog ove varijable kao važnog prediktora ishoda bolesnika s MDS-om.

Kliničke karakteristike kao čimbenici rizika u MDS-u

S obzirom na to da je MDS klinički karakteriziran citopenijom jedne ili više hematopoetskih loza, citopenije su sastavne varijable IPSS-a i R-IPSS-a.[8,11] Pri analizi citopenija prema IPSS-u nije dobivena statistički značajna razlika u OS-u. Za razliku od IPSS-a, R-IPSS jasno definira vrstu i težinu svake pojedine citopenije. Anemija se pokazala kao statistički značajan prognostički čimbenik. Jedna od zanimljivosti ovog nalaza jest da se uspjela diskriminirati grupa bolesnika s vrlo lošim ishodom (medijan OS-a od 3 mjeseca, N = 5), s vrijednosti hemoglobina u trenutku dijagnoze nižom od 80 g/L, što se može protumačiti uznapredovalošću bolesti pri postavljanju dijagnoze. Najveći broj bolesnika (N = 30) imao je vrijednost hemoglobina između 80 i 100 g/L, s lošijim medijanom preživljenja od bolesnika s vrijednostima iznad 100 g/L. Također, transfuzijska ovisnost bila je negativan prognostički čimbenik OS-a.

U jednoj od većih studija Malcovati i suradnici pokazali su povišen rizik od smrti pri vrijednosti hemoglobina nižoj od 90 g/L za muškarce (HR = 5,56) i 80 g/L za žene (HR = 5,35), koji je povezan s primarno kardijalnim komplikacijama i neleukemijskom smrti.[28] Taj se nalaz može objasniti i nastankom sekundarne hemokromatoze zbog učestalih transfuzija eritrocita kao posljedice taloženja željeza i nastanka oksidativnog stresa s posljedičnim oštećenjem ciljnih organa, ponajprije srca i jetre.[29] Unatoč metaanalitičkim dokazima opservacijskih studija da oralna kelacija željeza produljuje OS u niskorizične skupine bolesnika i preporukama vodećih smjernica za njezinu primjenu u niskorizičnih bolesnika s već razvijenom hemokromatozom ili onih kod kojih se očekuje da postanu transfuzijski ovisni, u našoj kohorti samo je dvoje bolesnika primalo oralne kelatore željeza čime objašnjavamo lošiji ishod te skupine zbog činjenice da deferasiroks nije uvršten na Listu lijekova Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje.[30,31] Većina podataka o kelatorima željeza u MDS-u dobivena je iz opservacijskih studija, a rezultati randomizirane studije faze III (deferasiroks naspram placebu) očekuju se početkom 2019. godine.[32]

Eritropoetin smanjuje transfuzijsku ovisnost u MDS-u, ali je diljem Europe u indikaciji *off-label*.[31] Zbog malenog broja bolesnika u našoj kohorti (N = 19) liječenje hipometilirajućim agensom 5-azacitidinom nije povezano s boljim ishodima, no taj je lijek trenutačno zlatni standard u liječenju visokorizične skupine bolesnika s MDS-om.[31,33]

Ograničenja studije

Ograničenja ove retrospektivne studije vezana su uz malen broj uključenih bolesnika i kratko vrijeme praćenja. Zbog malenog broja bolesnika studija nije zadovoljila prikladnu statističku moć da se provede Coxova regresijska analiza radi definiranja nezavisnih čimbenika OS-a.

Zaključak

U našoj kohorti bolesnika MDS se pokazao kao hematološka maligna bolest s lošom prognozom (medijan OS-a = 17 mjeseci, trogodišnja stopa OS-a = 25%). Pri analizi prognostičkih čimbenika upotrijebili smo najčešće bodovne indekse (IPSS, R-IPPS i WPSS) koji su se pokazali važnima u diskriminaciji ovih bolesnika. Bolesnici u niskorizičnim skupinama imali su bolji ishod za razliku od bolesnika u visokorizičnim skupinama, što je sukladno literaturnim navodima. Od kliničkih karakteristika jedino su prisutnost i težina anemija, odnosno transfuzijska ovisnost bile statistički značajan prognostički čimbenik.

Liječenje bolesnika oslanja se na kategoriju rizika prema prognostičkim bodovnim indeksima, transfuzijsku ovisnost i postotak mijeloblasta u koštanoj srži, pri čemu se ciljevi liječenja razlikuju ovisno o tome je li bolesnik u skupini niskog ili visokog rizika. Budućnost će donijeti nove molekularne biljege koji će biti novi terapijski ciljevi.

Bolesnicima koji uđu u progresiju uz terapiju hipometilirajućim lijekovima savjetuje se uključivanje u kliničke studije, inače je njihovo preživljenje kraće od 6 mjeseci.

LITERATURA

1. *Brunning RD, Orazi A, Germing U i sur.* Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview. U: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL i sur. (ur.). World Health Organization classifica-

tion of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4. izd. Lyon: IARC; 2008, str. 88–93.
2. *Arber DA, Orazi A, Hasserjian R i sur.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood 2016;127:2391–405.
3. *Ma X, Does M, Raza A, Mayne ST.* Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. Cancer 2007;109:1536–42.
4. *Nachtkamp K, Stark R, Strupp C i sur.* Causes of death in 2877 patients with myelodysplastic syndromes. Ann Hematol 2016;95:937–44.
5. *Onida F, Brand R, van Biezen A i sur.* Impact of the International Prognostic Scoring System cytogenetic risk groups on the outcome of patients with primary myelodysplastic syndromes undergoing allogeneic stem cell transplantation from human leukocyte antigen-identical siblings: a retrospective analysis of the European Society for Blood and Marrow Transplantation-Chronic Malignancies Working Party. Haematologica 2014;99:1582–90.
6. *Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E i sur.* Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. Lancet Oncol 2009; 10:223–32.
7. *European Medicines Agency.* Vidaza-EPAR product information. Dostupno na: https://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000978/WC500050239.pdf. Pristupljeno: 1. 8. 2017.
8. *Greenberg P, Cox C, LeBeau MM i sur.* International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood 1997;89:2079–88.
9. *Malcovati L, Germing U, Kuendgen A i sur.* Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. J Clin Oncol 2007;25:3503–10.
10. *Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD.* The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. Blood 2002;100:2292–302.
11. *Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J i sur.* Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. Blood 2012;120:2454–65.
12. *World Medical Association.* World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. JAMA 2013;310:2191–4.
13. *IBM Corp.* Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.
14. *Sant M, Minicozzi P, Mounier M i sur.* Survival for haematological malignancies in Europe between 1997 and 2008 by region and age: results of EUROCARE-5, a population-based study. Lancet Oncol 2014;15:931–42.
15. *Della Porta MG, Tuechler H, Malcovati L i sur.* Validation of WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS) for myelodysplastic syndromes and comparison with the revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). A study of the International Working Group for Prognosis in Myelodysplasia (IWG-PM). Leukemia 2015;29:1502–13.
16. *Maes B, Meeus P, Michaux L i sur.* Application of the International Prognostic Scoring System for myelodysplastic syndromes. Ann Oncol 1999;10:825–9.
17. *Neukirchen J, Lauseker M, Blum S i sur.* Validation of the revised international prognostic scoring system (IPSS-R) in patients with myelodysplastic syndrome: a multicenter study. Leuk Res 2014;38:57–64.
18. *Savic A, Marisavljevic D, Kvrgic V, Stanisavljevic N.* Validation of the Revised International Prognostic Scoring System for patients with myelodysplastic syndromes. Acta Haematol 2014;131:231–8.
19. *Mishra A, Corrales-Yepez M, Ali NA i sur.* Validation of the revised International Prognostic Scoring System in treated patients with myelodysplastic syndromes. Am J Hematol 2013;88:566–70.
20. *Voso MT, Fenu S, Latagliata R i sur.* Revised International Prognostic Scoring System (IPSS) predicts survival and leukemic evolution of myelodysplastic syndromes significantly better than IPSS and WHO Prognostic Scoring System: validation by the Gruppo Romano Mielodisplasie Italian Regional Database. J Clin Oncol 2013;31:2671–7.
21. *Kantarjian H, Issa JP, Rosenfeld CS i sur.* Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study. Cancer 2006:106:1794–803.
22. *Schanz J, Tüchler H, Solé F i sur.* New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. J Clin Oncol 2012;30:820–9.
23. *Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V i sur.* Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. Leukemia 2014;28:241–7.
24. *Bacher U, Kohlmann A, Haferlach T.* Mutational profiling in patients with MDS: ready for every-day use in the clinic? Best Pract Res Clin Haematol 2015;28:32–42.
25. *Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT i sur.* Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. Br J Haematol 1982;51:189–99.
26. *van Spronsen MF, Ossenkoppele GJ, Westers TM, van de Loosdrecht AA.* Prognostic relevance of morphological classification models for myelodysplastic syndromes in an era of the revised International Prognostic Scoring System. Eur J Cancer 2016;56:10–20.
27. *Pfeilstöcker M, Tuechler H, Sanz G i sur.* Time-dependent changes in mortality and transformation risk in MDS. Blood 2016;128:902–10.
28. *Malcovati L, Della Porta MG, Strupp C i sur.* Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). Haematologica 2011;96:1433–40.
29. *Gattermann N, Rachmilewitz EA.* Iron overload in MDS-pathophysiology, diagnosis, and complications. Ann Hematol 2011;90:1–10.
30. *Mainous AG 3., Tanner RJ, Hulihan MM, Amaya M, Coates TD.* The impact of chelation therapy on survival in transfusional iron overload: a meta-analysis of myelodysplastic syndrome. Br J Haematol 2014;167:720–3.
31. *Greenberg PL, Stone RM, Al-Kali A i sur.* Myelodysplastic Syndromes, Version 2.2017. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw 2017;15:60–87.
32. *NCT00940602.* A Multi-center, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Clinical Trial of Deferasirox in Patients With Myelodysplastic Syndromes (Low/Int-1 Risk) and Transfusional Iron Overload. Dostupno na: https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00940602?term=deferasirox. Pristupljeno: 24. 8. 2017.
33. *Komrokji RS.* Current State of the Art: Management of Higher Risk Myelodysplastic Syndromes. Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2016;16:39–43.

Liječ Vjesn 2019;141:247–249
https://doi.org/10.26800/LV-141-7-8-32

Pregled | Review

Bolesnik s mijelodisplastičnim sindromom u hitnoj službi

Patient with myelodysplastic syndrome in emergency department

Ingrid Prkačin[1,2]✉, Inga Mandac Rogulj[1], Višnja Mandac Bajan[3], Ana Planinc Peraica[1,2], Gordana Cavrić[1], Dean Mileta[1]

[1] Klinička bolnica Merkur, Klinika za unutarnje bolesti, Zagreb
[2] Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
[3] Neuropsihijatrijska bolnica „Dr. Ivan Barbot", Popovača

Deskriptori
MIJELODISPLASTIČNI SINDROMI – komplikacije; REFRAKTORNA ANEMIJA – etiologija; INFARKT MIOKARDA SA ST ELEVACIJOM – dijagnoza, komplikacije; TROPONIN – krv; MOŽDANI NATRIURETSKI PEPTID – krv; HITNA STANJA; KOMORBIDITET

SAŽETAK. Mijelodisplastični sindrom (MDS) grupa je klonskih mijeloidnih poremećaja s heterogenom kliničkom slikom, a najveći broj komplikacija posljedica je citopenija koje su karakteristično obilježje. Etiologija nije dovoljno poznata. Internacionalni bodovni sustav (engl. *The International Prognostic Scoring System* – IPSS) služi kao prognostički čimbenik za neliječene bolesnike s MDS-om. Nedjelotvorna hematopoeza, pa tako i eritropoeza, dovode do anemije, što je najčešći uzrok dolaska bolesnika s MDS-om u hitnu službu. Vrlo često bolesnici imaju brojna pridružena stanja poput kronične bubrežne bolesti i hipertenzije, a mogu imati i kliničku sliku akutnoga koronarnog sindroma. Prikazujemo 83-godišnju bolesnicu s MDS-om dijagnosticiranim 2014. godine i koja dosad nije liječena specifičnom hematološkom terapijom. Zbrinjavanje starijih hematoloških bolesnika u hitnoj službi nalaže sveobuhvatni pristup zbog često prisutnih pridruženih stanja koja se dodatno mogu pogoršati uz MDS.

Descriptors
MYELODYSPLASTIC SYNDROMES – complications; ANEMIA, REFRACTORY – etiology; ST ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION – complications, diagnosis; TROPONIN – blood; NATRIURETIC PEPTIDE, BRAIN – blood; EMERGENCIES; COMORBIDITY

SUMMARY. Myelodysplastic syndromes (MDS) are a group of clonal disorders arising from hematopoietic stem cells and are generally characterized by inefficient hematopoiesis and dysplasia. The International Prognostic Scoring Sytem (IPSS) is an important standard for assessing prognosis of primary untreated adult patients with myelodysplastic syndromes (MDS). Ineffective hematopoiesis leading to anemia is the most common cause of the arrival of patients with MDS in the emergency room . Patients with MDS have a number of associated conditions such as chronic kidney disease and hypertension, and may be present as acute coronary syndrome. We report a case of a 83-year-old female with MDS that was diagnosed in 2014 and had no specific treatment. She presented to the emergency department at the beginning of 2016 because of epigastric and chest pain that began in the morning. Diagnosis of subacute STEMI with a scar formed on front wall and elevated high-sensitivity troponin (hsTnI) which amounted to 1,369 ng / L (reference value < 15.6 ng / L) was made , and the patient was hospitalized in the Coronary Care Unit . The care for this population of patients, mainly elderly, in the emergency department requires a comprehensive approach due to the presence of associated conditions such as hypertension, chronic kidney disease and ischemic heart disease. Cardiovascular diseases (CVD) are the leading cause of death in all countries worldwide.

Mijelodisplastični sindrom (MDS) grupa je klonskih mijeloidnih poremećaja s heterogenom kliničkom slikom, a najveći broj komplikacija posljedica je citopenija koje su njihovo karakteristično obilježje. Internacionalni bodovni sustav (engl. *The International Prognostic Scoring System* – IPSS) služi za procjenu neliječenih bolesnika s MDS-om.[1] Pri svakodnevnoj praksi s bolesnicima u hitnoj službi korisno je znati koji od oblika MDS-a bolesnik ima s obzirom na različit terapijski pristup. Čimbenici nastanka MDS-a povezuju se sa somatskom mutacijom hematopoetskih prekursora, gdje pojam epigenetike ima odlučujuću ulogu.[2] Etiologija je donedavno bila slabo poznata, a kao mogući rizični čimbenici navode se benzen, radioterapija, prijašnje citostatsko liječenje i autologna transplantacija perifernih matičnih stanica. MDS je bolest koja se može pojaviti kod ljudi svih dobnih skupina, ali 80% bolesnika starije je od 60 godina, dok nakon 70. godine incidencija raste od 29 do 55 na 100.000 stanovnika. MDS je češći u muškaraca nego kod žena.

Karakteristično obilježje MDS-a jest klonsko bujanje svih triju loza hematopoetskih stanica (eritroidne, mijeloidne i megakariocitne linije).

Nedjelotvorna hematopoeza dovodi do anemije, što je najčešći uzrok dolaska bolesnika s MDS-om u hitne službe. Poremećena hematopoeza praćena je morfološkim promjenama stanica u koštanoj srži i na periferiji, vrlo često bolesnici mogu imati neutropeniju i/ili trombocitopeniju, a koštana je srž normalna ili hiper-

✉ **Adresa za dopisivanje:**
Prof. dr. sc. Ingrid Prkačin, https://orcid.org/0000-0002-5830-7131,
Klinička bolnica Merkur, I. Zajca 19, 10000 Zagreb, Hrvatska;
e-mail: ingrid.prkacin@gmail.com

Primljeno 6. svibnja 2019., prihvaćeno 1. srpnja 2019.

celularna. Mogu se javiti i ekstramedularna hematopoeza s hepatomegalijom i splenomegalijom, mijelofibroza, kao i razvoj akutne mijeloične leukemije (AML).[3]

S obzirom na to da je stvaranje zdravih krvnih stanica neučinkovito, povećan je broj nezrelih krvotvornih stanica koje traju kraće. Simptomi proizlaze iz najzahvaćenije loze: od umora, klonulosti, bljedoće (anemija), učestalih infekcija i vrućice (neutropenija) do sklonosti modricama, petehijama, epistaksama i krvarenjima u sluznice (hemoragijska dijateza zbog trombocitopenije). Simptomi mogu potjecati i od druge osnovne bolesti, npr., u starijeg bolesnika s već postojećom koronarnom bolešću, anemija u sklopu MDS-a može uzrokovati ili pogoršati anginu pektoris i dovesti do razvoja infarkta prema tipu T2 (zbog anemije, a ne zbog suženja koronarne arterije).

Osnovni cilj liječenja bolesnika s MDS-om u hitnoći jest ublažavanje simptoma bolesti, a ciljevi dugoročnoga hematološkog zbrinjavanja jesu poboljšanje kvalitete života i njegovo produljenje.

Kronična bubrežna bolest (KBB) prepoznata je kao rastući problem u svijetu koji zahvaća > 10% populacije.[4] Programi ranog prepoznavanja KBB-a pobuđuju sve više zanimanja šire medicinske znanosti, osobito s obzirom na mogućnosti smanjenja komplikacija i sniženja nepotrebnih dodatnih ekonomskih troškova povezanih sa završnim stadijima KBB-a.[4]

Ako se u bolesnika s MDS-om razvije bubrežno oštećenje, potrebno je pratiti bubrežnu funkciju ne samo razinom kreatinina nego i određivanjem glomerularne filtracije. Procjena bubrežne funkcije s probirom na rano prepoznavanje KBB-a u bolesnika s MDS-om nije rutinska praksa, ali je osobito važna radi pravodobnog prepoznavanja i odgađanja progresije završnog stadija KBB-a. U radu je prikazana bolesnica starije dobi da bi se naglasio sveobuhvatni pristup ovim bolesnicima zbog prisutnih pridruženih stanja poput hipertenzije, kronične bubrežne bolesti i ishemijske bolesti srca, a ne samo MDS-a.

Prikaz bolesnice

Osamdesettrogodišnja bolesnica dovezena je kolima hitne medicinske pomoći zbog boli u epigastriju. Pri dolasku bolesnica je bila slabo suradljiva zbog otprije prisutne nagluhosti i odbijanja uporabe slušnog aparata. Unatrag dvije godine pod kontrolom je hematologa zbog MDS-a, podtipa refraktorne anemije, bez specifične terapije. Hipertoničarka je godinama (2. stupanj hipertenzije) i ima povišene urate zbog čega uzima odgovarajuću terapiju. Sadašnje tegobe bolesnice započele su na dan prijma u ranim jutarnjim satima, a očitovale su se kao pritisak retrosternalno i u epigastriju tijekom 2 sata, a zatim se bol postupno širila periumbilikalno. Za vrijeme kliničkog pregleda bolesnica je bila supfebrilna (37,5 °C), a izmjerena vrijednost krvnog tlaka bila je 150/110 mmHg uz srčanu frekvenciju 80/min. Vrijednost glikemije iz prsta bila je povišena (9,2 mmol/L) uz urednu frekvenciju disanja i bez znakova popuštanja srčanog mišića. Prije dolaska u Kliniku liječena je antihipertenzivnom terapijom ACE-inhibitorom (lizinopril u dozi od 20 mg), uz dodatak diuretika (hidroklorotiazida od 12,5 mg) u fiksnoj kombinaciji, beta-blokatorom (bisoprolol od 1,25 mg), alopurinolom u dozi od 100 mg zbog hiperuricemije i oksazepamom uvečer. U laboratorijskim nalazima anemija je bila prisutna s razinom hemoglobina Hb od 110 g/L (Hct 0,329L/L), uz uredan MCV (97 fL) i RDW (13,8%), leukociti su bili povišeni (21,41 × 10 na 9/L), a nalaz trombocita bio je uredan (266 × 10 na 9/L).

Dislipidemija (snižen HDL, viši trigliceridi, povišen LDL) nije uočena, a vrijednosti jetrenih testova i amilaza u krvi i urinu bile su u referentnim vrijednostima. Povišene su bile razine urata (412 μmol/L) i CRP-a (37,6 mg/L), kalija (5,3 mmol/L), ureje (11,3 mmol/L), kreatinina 131 μmol/L, a vrijednost visokoosjetljivog troponina I (hsTnI) iznosila je 1369,7 ng/L (ref. < 15,6). Serijske kontrole visokoosjetljivog troponina I bile su 1940,7 – 661,9 – 309,6 – 282,1 – 248,6 – 174,3 – 144,1 (< 15,6 ng/L).

Moždani natriuretički peptid – BNP (CMIA) iznosio je 617,9 (granična vrijednost: < 100 ng/L). U nalazu EKG-a bili su: sinusni ritam, f 61/min, lijeva el. os, ST-elevacija do 1 mm u V1 – V2, neg.T-valovi anterolateralno, reducirani R u V1 – V3. Bolesnici dosad nije bila evidentirana koronarna bolest srca, kao ni kronična bubrežna bolest. Procijenjena bubrežna funkcija bila je u okviru 3. stupnja, na temelju eGFR-MDRD-a od 47 mL/min/1,73 m^2. Ultrazvuk srca pokazao je istanjenu i hipokinetičku donju stijenku s blažom hipokinezijom bazalnog segmenta prednje stijenke i očuvanom sistoličkom funkcijom (EF LV 50%), blagom mitralnom insuficijencijom te blagom do umjerenom trikuspidalnom insuficijencijom. Bolesnica je konzervativno liječena, a tijekom boravka u Klinici pratio se pad razine visokoosjetljivog troponina i predložena je daljnja konzervativna kardiološka obrada. S hematološke strane, nije bilo znakova progresije mijelodisplastičnog sindroma, vrijednosti hemoglobina na Odjelu kretale su se od 95 do 110 g/L, uz postupno normaliziranje vrijednosti leukocita i bez odstupanja broja trombocita od referentnih vrijednosti. S obzirom na refraktornu anemiju, s hematološke strane preporučeno je bolesnici dati transfuziju eritrocita pri padu razine hemoglobina ispod 100 g/L i tako spriječiti eventualne buduće komplikacije anemijskog sindroma.

Rasprava

Pri postavljanju dijagnoze mijelodisplastičnog sindroma (MDS), posebice u starijih bolesnika s refrak-

tornom anemijom, leukopenijom ili trombocitopenijom, diferencijalnodijagnostički treba razmotriti ostale „citopenije" povezane sa sistemskim bolestima poput sistemskog eritematoznog lupusa, manjka vitamina ili nuspojava lijekova. Dijagnoza se postavlja citološkim pregledom periferne krvi i analizom koštane srži s utvrđivanjem morfoloških abnormalnosti u 10 – 20% stanica određene loze.[5]

Najčešća promjena u MDS-u jest anemija, praćena makrocitozom i anizocitozom, što je u laboratorijskim nalazima vidljivo iz porasta MCV-a i RDW-a. Redovito postoji određeni stupanj trombocitopenije, a trombociti su u citološkom razmazu različite veličine, slabije granulirani. Broj bijelih krvnih zrnaca može biti uredan, povećan ili smanjen. Zrnca u citoplazmi neutrofila nejednaka su i brojčano varijabilna. U razmazu eozinofili mogu pokazivati abnormalnu granularnost. Nalaze se i pseudo-Pelger-Huëtove stanice (hiposegmentirani neutrofili). Monocitoza je karakteristična za podskupinu kronične mijelomonocitne leukemije, a nezrele mijeloidne stanice nalaze se u slabije diferenciranim podskupinama. Citogenetika je obično poremećena, s jednim ili više otklona, češće na kromosomima 5 ili 7. Većina bolesnika s MDS-om ima neprepoznate i brojne ostale kardiovaskularne čimbenike rizika (kao što smo pokazali kod naše bolesnice).

Kardiovaskularne rizične čimbenike (KVR) u skupini bolesnika s mijelodisplazijom možemo podijeliti u: A. glavne (povišen krvni tlak, masnoće), B. sporedne (debljina, kronična bubrežna bolest, alkohol, stres, depresija), C. nekonvencionalne (upalni markeri), D. čimbenike vezane uz samu bolest i liječenje.[6] KVR u ovih bolesnika nedovoljno je prepoznat i podcijenjen problem koji može utjecati na odabir liječenja MDS-a i obvezatno bi se trebao primjenjivati u dijagnostičkom postupniku obrade. Kod bolesnika s MDS-om visokog rizika i povećanim postotkom mijeloblasta upravo blasti mogu pridonijeti aterotrombozi utječući na protok krvi u mikrocirkulaciji. Blasti mogu otpuštati i tkivni faktor čija aktivnost potiče ekstrinzički sustav s generiranjem stvaranja trombina.

Osim tradicionalnih kardiovaskularnih čimbenika rizika, u bolesnika koji imaju MDS, kao i kod onih s KBB-om prisutni su i specifični čimbenici rizika koji aditivno ili sinergistički, s jedne strane, ubrzavaju klinički tijek bolesti, a, s druge strane, znatno povisuju kardiovaskularni rizik.[7] Ti specifični čimbenici rizika jesu: hiperhomocisteinemija, povišen upalni biljeg (CRP), proteinurija, pothranjenost, upala, oksidativni stres, poremećaj spavanja i poremećaji elektrolita.[7,8]

Važnost razmišljanja o KVR-u i njegovo određivanje u skupini bolesnika s MDS-om može pridonijeti kvaliteti liječenja hipertenzije, prilagodbi analgetske terapije, izboru antibiotika koji su „manje" toksični, uz osnovno liječenje MDS-a koje je većinom simptomatsko, uključujući transfuzijsko liječenje.[9]

U hitnim službama bolesnike s poznatim MDS-om valja pomno obraditi i s obzirom na ostale bolesti poput akutnoga koronarnog sindroma, uz određivanje visokoosjetljivog troponina i njegovo serijsko mjerenje.[10]

Zaključak

Liječenje MDS-a nužno je započeti tako da ono bude usmjereno na osnovno liječenje i liječenje komplikacija koje se pojavljuju u tijeku bolesti. Bitno je obaviti probir bolesnika na kardiovaskularni rizik (rutinsko određivanje eGFR-a) i liječiti poznate čimbenike rizika (antihipertenzivna terapija, mediteranska dijeta, statini, fenofibrati).

Za prikladan i individualan pristup bolesniku s MDS-om važni su suradnja različitih struka i sagledavanje pridruženih bolesti i stanja, trenutačnog načina liječenja te mogućnosti odabira samog bolesnika.

LITERATURA

1. *Greenberg PL, Tüchler H, Schanz J i sur.* Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. Blood 2012;120(24):2454–65. DOI: 10.1182/blood-2012-03-420489.
2. *Visconte V, Tiu RV, Rogers HJ.* Pathogenesis of myelodysplastic syndromes: an overview of molecular and non-molecular aspects of the disease. Blood Research 2014;49(4):216–27. DOI: 10.5045/br.2014.49.4.216.
3. *Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D i sur.* Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. Blood 2013:122:2943–64.
4. *Radhakrishnan J, Remuzzi G, Saran R i sur.* Taming the chronic kidney disease epidemic: a global view of surveillance efforts. Kidney Int 2014;86:246–50.
5. *Lauc G, Huffman JE, Pučić M i sur.* Loci Associated with N-Glycosylation of Human Immunoglobulin G Show Pleiotropy with Autoimmune Diseases and Haematological Cancers. Plos Genet 2013;9(1):e1003225. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003225.
6. *Deedwania P, Singh V, Davidson MH.* Low high-density lipoprotein cholesterol and increased cardiovascular disease risk: an analysis of statin clinical trials. Am J Cardiol 2009;104 (10 Suppl.):3E–9E.
7. *Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K i sur.* Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. Lancet 2013;382(9888): 260–72.
8. *Locatelli F, Bárány P, Covic A i sur.* ERA-EDTA ERBP Advisory Board. Kidney Disease: Improving Global Outcomes guidelines on anaemia management in chronic kidney disease: a European Renal Best Practice position statement. Nephrol Dial Transplant 2013;28(6):1346–59.
9. *Dombret H, Seymour JF, Butrym A i sur.* International phase 3 study of azacitidine vs. conventional care regiments in older patients with newly diagnosed AML with >30 % blasts. Blood 2015;126(3):291–9.
10. *Prkacin I, Pocanic D, Mileta D i sur.* The significance of serial changes of high sensitivity cardiac troponin I in coronary vs. non-coronary disease. Eur J Heart Fail 2016;18(1):409.