

RAD JUGOSLAVENSKE AKADEMIJE ZNANOSTI
I UMJETNOSTI

KNJIGA 352

ODJEL ZA MEDICINSKE NAUKE
KNJIGA XII

UREDNIK

Dop. član RADOŠLAV LOPAŠIĆ

JGOSLAVENSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI

R A D

JUGOSLAVENSKE AKADEMIJE
ZNANOSTI I UMJETNOSTI

A

Z A G R E B

1 9 7 1

Tehnička redakcija, tisak, uvez i oprema:

IZDAVAČKI ZAVOD JUGOSLAVENSKE AKADEMIJE
ZAGREB

N. GRČEVIĆ, V. VINCE i J. VESENJAK-HIRJAN

NEUROPATOLOGIJA EKSPERIMENTALNOG KRPELJNOG MENINGOENCEFALITISA

*Morfologija lezija izazvanih na bijelom mišu jugoslavenskim
sojevima virusa**

Istraživanja krpeljnog meningoencefalitisa (KE) počinju u Jugoslaviji 1953. g. povodom pojave veće epidemije sezonskog meningoencefalitisa u Sloveniji. Tom je prilikom izoliran prvi virus iz bolesnog čovjeka (*Vesenjak-Zmijanac i sur.*). Virusološka, epidemiološka i klinička istraživanja (*Vesenjak-Zmijanac i sur.*, *Bedjanič i sur.* 1955, *Kmet i sur.*), a konačno i izolacija virusa iz krpelja *Ixodes ricinus* (*Likar*) identičnog onome izoliranom iz čovjeka razjašnjaju etiologiju endemoepidemične sezonske bolesti kao KE poput istovremene pojave sličnog oboljenja u susjednoj Austriji (*Pond i Russ, Richling, Grinschgl* 1955).

Ubrzo se utvrdilo da je centralni predio Slovenije endemično žarište i predstavlja »alpski biotop« s karakteristikama prirodnog žarišta KE (*Bardoš i sur.*, *Rosicky i sur.*, *Tovornik, Vesenjak-Hirjan i sur.* 1961, *Vesenjak-Hirjan i sur.* 1965), pa se polje istraživanja problema KE u tom pravcu proširilo. U tom području svakih nekoliko godina buknu veće epidemije meningoencefalitisa kao one 1957. g., 1960. g., 1963. g. i 1966. g.

Osim na području Slovenije, nešto kasnije tj. 1961. g. otkrivena su prirodna žarišta KE i u Hrvatskoj. Ona u sjevero-zapadnom dijelu Panonske nizine karakteriziraju posebne geografske i ekološke osobine »panonskog biotopa«, a na obalama Jadranskog mora »mediteranskog« biotopa« (*Vesenjak-Hirjan i Egri-Hečimović, Žorinc, Ribarić-Vince i sur.*, *Vesenjak-Hirjan i sur.* 1965), međutim prvi slučaj oboljenja čovjeka dokazan je već 1953. g. (*Fališevac i sur.*).

Virusi KE su do sada izolirani iz čovjeka i krpelja u prva dva biotopa dok su istraživanja u »mediteranskom biotopu« u tom smjeru još u toku. Biološke i antigene osobine tih virusa pokazuju da oni pripadaju za-

* Ovaj rad je financiran od Saveznog fonda za naučni rad SFRJ. (Tema: »Infekcije nekim Arbo virusima«. Ugovor br. 3255/64.

padnom tipu virusa iz Ruskog proljetno-ljetnog encefalitis kompleksa (*Vesenjak, Pond i Rus, Vesenjak-Hirjan i Galinović, Vesenjak i Zimolo, Vince i Grčević, Brudnjak i Šooš*). U taj se okvir uklapaju i kliničke slike studiranih bolesnika (*Bedjanič i sur. 1955, Fališevac i sur., Zorinc, Ribarić-Vince i sur., Bedjanič i sur. 1964*).

Prvi preliminarni eksperimenti na bijelom mišu (*Vesenjak i Zimolo*) pokazali su da se prema histopatološkim karakteristikama radi o neurotropnom virusu. Stoga je bio opravdan poticaj da se u okviru programa istraživanja KE ispitaju naši sojevi u tom pravcu dublje i dalje.

U svrhu detaljne neuropatološke obrade toga problema pristupili smo seriji eksperimenata na bijelom mišu. Prva grupa eksperimenata, iz kojih su neka zapažanja već preliminarno objavljena (*Vince i Grčević*) imala je za cilj upoznavanje morfoloških karakteristika eksperimentalnog KE uzrokovanog našim humanim sojevima virusa, i to studiranog na klimaksu bolesti. Kasnije su eksperimenti prošireni i krpeljskim sojem virusa, a subjekt ovog rada je završni prikaz rezultata i zaključaka iz čitave grupe eksperimenata.

MATERIJAL I METODE

Inokulacija je vršena virusnom suspenzijom od mozгова inficiranih miševa u razrijeđenju 10^{-1} sa slijedećim sojevima virusa: 1. »Omerzu«, izoliran iz krvi čovjeka 1960. g. (*Vesenjak-Hirjan i Jung*), upotrijebljen u osmoj pasaži na mišu; 2. »Slovenija B. S.«, izoliran iz krvi čovjeka u Sloveniji 1953. g. (*Vesenjak-Zmijanac i sur.*), upotrijebljen u 22. pasaži na mišu; 3. »SV 1485/63«, izoliran iz krpelja *Ixodes ricinus* u Hrvatskoj 1963. g. (*Vesenjak-Hirjan i Šooš*), upotrijebljen u 2. pasaži na mišu. Virusni inokulum priređen je u razređenju 10^{-1} u fiziološkoj otopini uz dodatak 500 gamma streptomicina i 1000 jed. penicilina na 1 ml supernatanta, inkubirano na $+4^{\circ}\text{C}$.

Eksperimenti su vršeni na bijelim miševima vlastitog uzgoja, tri tjedna starim i 10–12 gr. teškim, koji su se pokazali vrlo osjetljivima na infekt virusima KE.

Inokulacija je izvršena *intracerebralno, intraperitonealno* i *supkutano* na grupama od po 5 miševa, tj. za svaki soj virusa upotrijebljeno je 15 životinja.

Nakon inokulacije praćen je tok bolesti i životinje se pustilo do vrhunca kliničke slike bolesti, kada su žrtvovane ili su spontano uginule. Uginule ili žrtvovane životinje bile su odmah secirane, glava i kičmeni stup odvojeni, kalota glave poluotvorena i taj je materijal fiksiran dva dana u 10% slanom formalinu. Nakon toga bili su ispreparirani mozak i leđna moždina, a nakon dodatne fiksacije cjelokupni je materijal uklonjen u parafin i rezan konsektivnim poluserijskim rezovima debljine 5–7 mikrona. Rezovi su bili bojadisani sa hemalaun-eozinom i Chresyl-violetom.

PREGLED REZULTATA

1. Klinička slika

Naše su životinje pokazivale tipičnu sliku eksperimentalnog KE na bijelom mišu, kao što je opisana u ranijim eksperimentima (*Vesenjak-Zmijanac i sur., Vesenjak*). Ona je u pravilu započinjala nakostriješenouću dlake, zgurenošću, nemirom, pa tremorom i hodanjem u krugu, da bi se ubrzo pojavile paralize ekstremiteta, grčevi i otežano disanje. Klinička se slika razvijala redovito vrlo naglo i u kratko vrijeme doizazala je klimaks.

TABELA I

Prikaz kliničkog toka bolesti životinja inokuliranih sojem »Omerzu«

Način inokulacije		Dani:									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Intracerebralno	1			S	X						
	2			S	X						
	3					S X					
	4					S X					
	5					S X					
Intraperitonealno	6					S X					
	7					S	X				
	8					S		X			
	9					S				X	
	10					S				X	
Supkutano	11					S	X				
	12					S	X				
	13					S				X	
	14					S				X	
	15						S				O

S = pojava kliničkih simptoma
 X = vrijeme ugibanja ili žrtvovanja u agoniji
 O = žrtvovan nakon ozdravljenja

TABELA II

Prikaz kliničkog toka bolesti životinja inokuliranih sojem »Slovenija BS«

Način inokulacije		Dani:									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Intracerebralno	1			S X							
	2			S X							
	3			S X							
	4				S X						
	5					S X					
Intraperitone- alno	6			S X							
	7				S X						
	8				S		X				
	9					S X					
	10					S	X				
Supkutano	11			S X							
	12					S X					
	13						S X				
	14						S X				
	15						S X				

S = pojava kliničkih simptoma

X = vrijeme ugibanja ili žrtvovanja u agoniji

TABELA III

Prikaz kliničkog toka bolesti životinja inokuliranih sojem »SV 1485/63«

Način inokulacije		Dani:											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Intracerebralno	1			S	X								
	2			S	X								
	3					S	X						
	4					S	X						
	5					S	X						
Intraperitone- alno	6					S	X						
	7					S	X						
	8					S	X						
	9					S		X					
	10					S			X				
Supkutano	11					S	X						
	12						S	X					
	13						S	X					
	14						S	X					
	15							S	X				

S = pojava kliničkih simptoma

X = vrijeme ugibanja ili žrtvovanja životinje u agoniji

Na tabelama I, II i III prikazan je pregled toka bolesti svih životinja.

Kao što se vidi, razvoj bolesti je uglavnom sličan kod sva tri soja virusa. Iako intracerebralna inokulacija u sve tri grupe ima tendenciju kraće inkubacije, a supkutana najduže, većina je životinja pokazivala početak bolesti oko 5. dana nakon inokulacije (55,5%). Pri tome postoji veća sličnost između grupe »Omerzu« i »SV 1485/63« u pomaku nastupa prvih simptoma prema tipu inokulacije nego kod grupe »Slovenija BS«. Tok bolesti bio je u pravilu eksplozivan i buran, pa je kod velike većine životinja dosegao klimaks unutar 24 sata (71%). Lagana tendencija protražiranom kliničkom toku pokazala se kod intraperitonealne i supkutane inokulacije, i to uglavnom samo kod grupe »Omerzu«, u kojoj je jedna životinja nakon lakše slike bolesti i ozdravila.

2. Neuropatološka obrada

Analiza našeg materijala pokazala je da se na tkivnoj razini pojavljuju dvije konstantne forme reakcije. One su u biti nespecifične i javljaju se u raznim međusobnim kombinacijama, ali njihove morfološke karakteristike opravdavaju pokušaj da ih se opiše, definira i prati kao dva tipa reakcije.

Tip I, ili »meningovaskularni tip« odgovara klasičnim i standardnim opisima upalnih promjena kod KE. Kod tog tipa reakcije karakteristična je i lokalizacija i patologija lezija. Proces se, naime, odigrava na nivou mekih opna, Virchow-Robin-ovih prostora i krvnih žila većeg i srednjeg kalibra, tj. dobiva se dojam da su ti elementi u centru patološkog zbivanja (sl. 1, 2, 3, 4, 5 i 6). To je i najuočljivija i najgrublja patološka reakcija u okviru cjelokupnog morfološkog kompleksa bolesti, a u isto vrijeme i »najupalnija«. Upalni proces mekih opni, koji je u principu difuzan, mjestimice se kontinuiru u vidu perpendikularnih pruga u Virchow-Robinove prostore (meningitički dio kompleksa) i uzduž penetrirajućih krvnih žila diskontinuirano se širi u dublje djelove mozga, postajući to više mikrofokalan, što je kalibar krvnih žila manji (vaskulitički dio kompleksa). U istom smislu raste, dakako, i stupanj involviranja moždanog tkiva, a time se i mijenja izgled i celularni sastav lezija. Dok je, naime, upalni proces u mekim opnama i Virchow-Robinovim prostorima zaista vezan isključivo na mezenhimalni aparat i gotovo uvijek pijom oštro odijeljen od moždanog tkiva (sl. 1 i 3), ta granica naglo nestaje čim žile izgube pijin omotač i počinju sa grananjem (sl. 2, 3, 4, 5 i 6). Meningitički dio procesa sastoji se u celularnom upalnom infiltratu u kome dominiraju limfociti sa vrlo ranim i snažnim bujanjem endotelijalnih elemenata (sl. 1, 2 i 6). Leukociti su rjeđi, a eksudacija je osrednja uz relativno malo fibrina. U Virchow-Robinovim prostorima je slika slična, no u pravilu je upalna reakcija još jača, leukociti brojniji, a stjenke krvnih žila pokazuju već teške promjene i početne nekroze sa jačom seroznom i fibrinoznom eksudacijom (sl. 2). U dubljim partijama proces dobiva izrazito žarišni karakter, s nekrotizirajućim vaskulitismom u centru i s probojem upalnog infiltrata u moždano tkivo (sl. 4

i 6). Upalni se infiltrat sastoji i ovdje uglavnom od limfocita i mezenhimalnih elemenata, no primjesa leukocita je ovdje veća. U žarištima i oko njih postoji izrazita nekroza moždanog tkiva sa kariorektičkim masama i eozinofilnim debrijem (sl. 5). Ganglijske stanice i oligodendroglija pokazuju teške degenerativne promjene i naglo propadanje (sl. 5), a karakteristična je i pojava značajne količine seroznog eksudata (upalni edem) i česta primjesa eritrocita u upalnom infiltratu i nekrozi. Astroglija također podliježe degenerativnim promjenama i nekrozi s izrazitom klazmatodendrozom. Na periferiji žarišta astroglija pokazuje znakove rane proliferacije s pojavom stanica Alzheimerovog tipa I i II. Karakteristično je i obilno sudjelovanje mikroglije, koja počinje vrlo rano proliferirati sa svojim štapičastim formama (sl. 4), dok se protoplazmatske fagocitarne forme gotovo uopće ne javljaju. Žarišta tipa I su u pravilu dosta velika, a po opsežnosti nekroze i serozne eksudacije, s jedne strane, te proliferaciji mikroglije, s druge strane, mogu se razlikovati dva smjera razvoja: jedan više nekrotičko-eksudativan (sl. 5) i drugi pretežno proliferativno-granulomatozan (sl. 4 i 6). Vremenski faktor, čini se, nema u determiniranju ta dva smjera razvoja žarišta bitne uloge, jer se »granulomatozni« tok razvoja žarišta s izrazitom proliferacijom štapičaste mikroglije vidi i kod sasama akutne slike bolesti, koja je klinički trajala svega par sati. Korelacija histoloških promjena s dužinom trajanja bolesti nije u našem eksperimentu dala u tome smislu uvjerljivih dokaza, pa smo morali zaključiti da je »granulomatozni« tok razvoja procesa, kad postoji, determiniran od samog početka, isto kao što je to i slučaj sa »nekrotičko-eksudativnim« tokom. U nekim slučajevima dominira jedan, a u drugim drugi tip, dakako sa nizom prijelaza i varijacija, koje često onemogućuju povlačenje oštre granice.

Kad bi se taj tip i promjena, koji se javlja uglavnom u kori i oko većih krvnih žila (pretežno vena) bazalnih ganglija i moždanog debla, interpretirao sam za sebe, on bi predstavljao tipičnu sliku hematogene diseminirane upale sa snažnim toksičkim djelovanjem na stijenke krvnih žila, prodorom tih stijenki na žilama manjeg kalibra i izrazitim nekrotizirajućim efektom na okolno tkivo. Značajno je da vaskulitis nema tendencije obliteraciji lumena niti trombozi.

Tip II ili »*angio-encefalotoksički*« reakcije razlikuje se od tipa I i po lokalizaciji i po histološkoj slici promjena. To je izrazito mikrofokalni proces, a javlja se na nivou malih krvnih žilica, naročito prekapilara i venula. Ta su žarišta u pravilu sitnija od onih tipa I, ali su ponekad u jednom području tako brojna da njihovim kontinuiranjem dolazi do vrlo opsežnih tkivnih promjena, koje onda djeluju difuzno. Osnovna morfološka karakteristika tih lezija je jaka dilatacija i heperemija žilica, ekscesivna serozna eksudacija (edem) sa značajnom ekstravazacijom eritrocita i perivaskularna nekroza moždanog tkiva (sl. 7, 8, 9, 10, 11 i 12). Celularna upalna infiltracija je u pravilu oskudna ili potpuno izostaje. Tkivna nekroza, zbog obilne kariorekse i zrnatog raspada, ima karakterističan prašinast izgled (sl. 10, 11 i 12), koji dolazi naročito do izražaja u žarištima gdje uopće nema upalnog infiltrata. Jaka serozna

eksudacija, koja se u najmanjim perikapilarnim žarištima javlja u obliku tipičnih perivaskularnih balonastih izljeva (»balonasti edem«), u većim žarištima prodire dalje i dovodi do rarefakcije tkiva sa stvaranjem spongioznog statusa (sl. 7, 8 i 11). Konfluiranjem takvih »areaktivnih«, seroznom tekućinom razrijeđenih žarišta, stvara se ponekad veće područje oštećenja, koje može imponirati kao encefalomalacija. Tendencija ekstravazaciji eritrocita je posebna komponenta lezija tipa II. Ona je ponekad toliko izražena da se sitnije hemoragije mogu primijetiti već i manjim povećanjem. Taj se fenomen pojavio, s raznim varijacijama intenziteta, u svim grupama ovog eksperimenta. Živčani parenhim, a također i neuroglia potpadaju u centru žarišta nekrozi. Mikroglia ponekad također propada, i tek na periferiji tih žarišta vidi se njena umjerena proliferacija. Promatrano sa aspekta opće patologije upale, tip II bi odgovarao alterativno-eksudativnoj upali.

Kao što je prije istaknuto, ta dva tipa reakcija ne javljaju se nikad samostalno, već su uvijek kombinirani, a među njima ima i prijelaza. Njih treba shvatiti kao dva ekstremna prototipa tkivnih reakcija, koji u međusobnim kombinacijama pokazuju razne varijacije cjelokupne slike meningo-encefalitičkog kompleksa u kome jednom prevalira jedan, a drugi put drugi tip. Analiza procesa sa toga stajališta i varijacije koje na taj način dolaze jasnije do izražaja omogućuju bolji uvid u tkivna zbivanja i stvaranje zaključaka o patogenetskim mehanizmima, koji su očito multifaktorijelni.

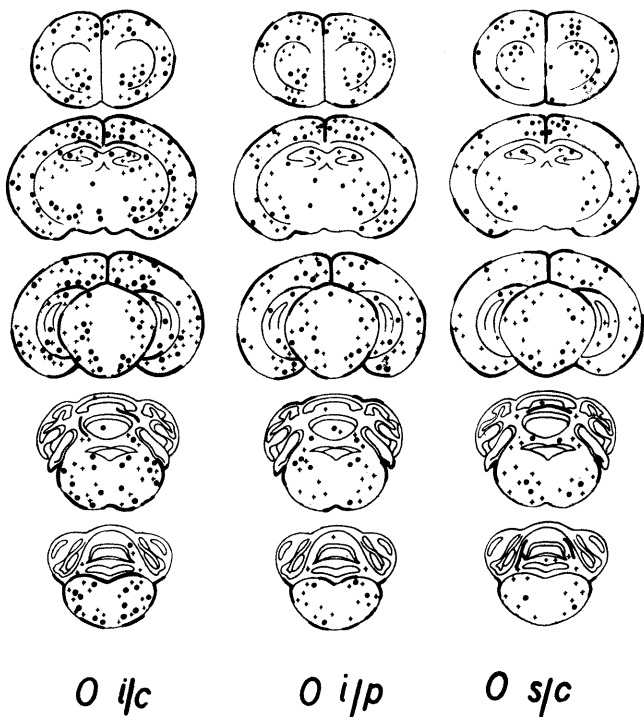
Interpretacija tih dvaju tipova reakcija na organskoj razini pokazuje da postoji određena shema topičke predilekcije, no ona prema našim analizama ne djeluje specifično.

Na grafovima 1, 2 i 3 prikazana je sumarno topička distribucija upalnih lezija tipa I i tipa II kod naša tri ispitivana soja virusa. Tip I je označen punim točkama (intracerebralna žarišta) i debelim crtama (meningitis), dok je tip II prikazan križićima.

Što se tiče općeg kvantiteta meningo-encefalitičkog procesa, postoji jasna razlika između intracerebralne inokulacije, s jedne, te intraperitonealne i supkutane inokulacije, s druge strane. Ta se razlika naročito vidi kod tipa I, koji je posebno jako izražen kod intracerebralne inokulacije, dok je razlika kod tipa II znatno manja, pa gotovo i ne postoji.

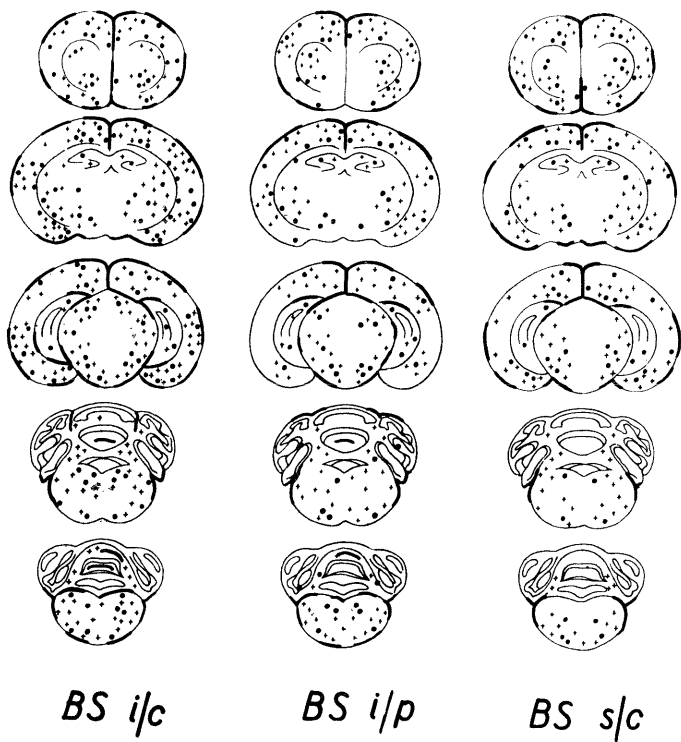
U moždanoj kori lezije se naročito akumuliraju u parasagitalnim i laterobazalnim partijama, a manje u hipokampusu. U bazalnim ganglijima su najjače zahvaćena područja oko vene terminalis i lateralne zone. Mali je mozak općenito manje zahvaćen upalnim procesom, dok su promjene u moždanom deblu kod svih tipova inokulacije i kod svih sojeva virusa teške, a naročito se okupljaju u lateralnim partijama.

Analizirajući zone predilekcije teško ih se može korelirati sa anatomske strukturalne mozga i dobiva se dojam da su one u velikoj mjeri determinirane angioarhitektonikom, no proces je uglavnom lokaliziran u svojoj supstanciji. Kao što je već istaknuto, proces je u biti žarištan a



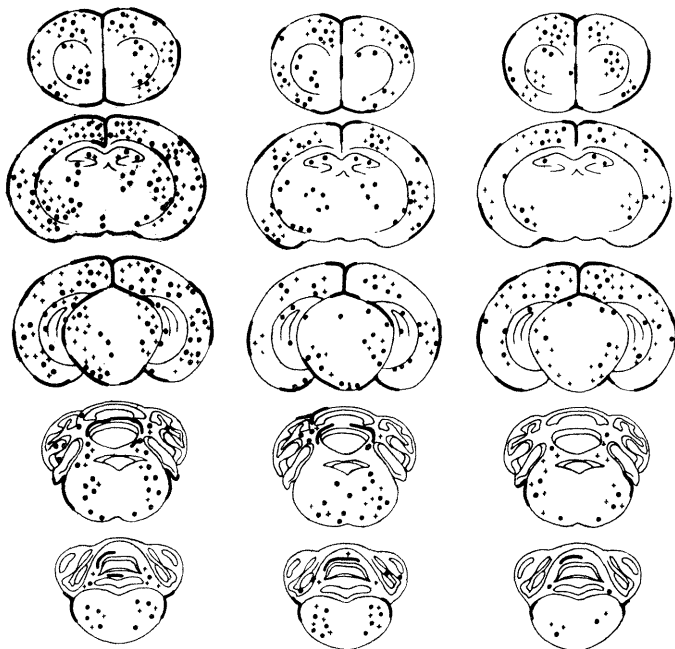
Graf. 1

Uzorak distribucije lezija tipa I i II kod virusa »Omerzu«



Graf. 2

Uzorek distribucije lezija tipa I i II kod virusa »Slovenija BS«



SV i/c

SV i/p

SV s/c

Graf. 3

Uzorak distribucije lezija tipa I i II kod virusa »SV 1485/63«

praktički se sva žarišta mogu dovesti u vezu s krvnim žilama i bez obzira na njihovu veličinu, ona nikada ne zahvaćaju čitavu parenhimnu strukturu jedne anatomske jezgre, nego samo njene pojedine dijelove već prema angioarhitekturi područja.

Interpretacija promjena živčanog parenhima, tj. analiza na celularnoj razini išla je u našoj studiji za tim da se utvrdi citomorfologija kao i topička distribucija tih promjena.

Što se tiče citomorfologije degenerativnih promjena na ganglijskim stanicama, u nizu pojava mogli smo razlikovati tri osnovna tipa.

Prvi i vrlo karakterističan tip degeneracije ganglijskih stanica sastoji se u homogenizaciji i koagulaciji protoplazme s eozinofilijom i ranim gruboznatim raspadom uz piknozu jezgre (sl. 13, 14 i 15). Stanice se smanjuju, dendriti se kidaju od tijela stanice, a jezgra se demarkira od protoplazme, pri čemu često nastaje polumjesečava vakuola (Schlitzvakuole prema Kovac i Moritschu). Taj se tip degeneracije naročito javlja u velikim ganglijskim stanicama, a napose u Purkinjeovim stanicama, motornim stanicama moždanog debla i prednjih rogova spinalne moždine, u vestibularnoj jezgri, pojedinim stanicama bazalnih ganglija, a manje u moždanoj kori. S time su u vezi i pojave polumjesečavih vakuola, koje smo također susretali najčešće u velikim stanicama (sl. 13 i 15). Slične smo vakuole, međutim, nalazili i u kontrolnom materijalu, pa smo došli do zaključka da se najvjerojatnije radi o karakteristici samih stanica u vezi sa sastavom i rasporedom tvari u njima. Te su vakuole prema tome sasvim nespecifičan fenomen determiniran prirodnim svojstvima stanica te životinje a ne uvijek oštećujućom virusnom noksom. U cjelini uzeto, ovaj tip promjena ganglijskih stanica morfološki odgovara »homogenizirajućem tipu« bolesti neurona po Nisslu, koji često susrećemo i kod humanog encefalitisa.

Drugi tip promjena na ganglijskim stanicama donekle je sličan prvome po tome što se stanice također smanjuju i protoplazma postaje acidofilna, ali ne dolazi do lomljenja i grubo zrnatog raspada (sl. 13 i 14). Pri tome se često oko stanice pojavljuju pukotine, koje mogu ponekad izgledati kao fiksacioni artefakt. Te se pukotine naročito javljaju u okolini žarišta tipa II i mogu se smatrati odrazom edema, odnosno prisustva seroznog eksudata u tkivu. Kako je taj tip degeneracije ganglijskih stanica vrlo sličan »ishemičkoj bolesti« neurona po Nisslu, u njegovoj interpretaciji treba uzeti u obzir i ishemičko porijeklo i na toj osnovi pokušati izvršiti diferencijaciju. To je, međutim, ponekad gotovo nemoguće, a napose kad se javi primjesa očite ishemičke degeneracije, koja je prema našem iskustvu česta i u kompleksu eksperimentalnog KE na klimaksu bolesti redovita popratna pojava (sl. 4). Mi smo mogli ustanoviti da se taj tip promjene stanica i javlja ponajviše u zonama selektivne vulnerabilnosti na hipoksiju, a u najvećoj mjeri kod onih životinja koje su pokazivale u agoniji teška poremećenja disanja ili su se sufocirale u vodi za piće. Iako je vjerojatno jedan dio promjena tog tipa varijanta homogenizirajuće bolesti neurona, sigurno je da veliki dio otpada na hipoksičku genezu. Dalje je zaključke na našem materijalu iz ove grupe eksperime-

nata bilo nemoguće praviti, jer smo se ograničili na klinički i anatomski najtežu sliku bolesti u kojoj je sasma sigurno i hipoksički faktor igrao određenu ulogu pri mehanizmu smrti pa ga treba svakako uzeti u obzir kao konkurentni faktor u nastajanju degenerativnih promjena.

Treći tip degeneracije ganglijskih stanica je sasma drugačiji od prva dva i njegovo je definiranje bilo jednostavno. Karakteristika te promjene je bubrenje stanica sa otapanjem Nisslove supstancije, blijedenjem, vakuolizacijom i konačnim otapanjem čitave protoplazme (sl. 16, 17 i 18). Jezgra se skvrćuje i također se brzo raspada u kariorekličku masu. I dendriti bubre i otkidaju se od stanice. Pojava intraprotoplazmatskih vakuola katkada je toliko izražena da njihovim stapanjem nastaju velike vakuole, pa stanica izgleda mjehurasto (sl. 18). Te su vakuole, za razliku od prije spomenutih »polumjesečavih« vakuola, smještene karakteristično uz periferiju protoplazme, ispod stanične membrane, pa se ponekad stvaraju i strukture poput krune sa zvjezdolikim ostacima protoplazme. Pojava tih vakuola, kao i inače tog tipa promjene posebno je izražena u stanicama u blizini žarišta tipa II, koji se, kako je prije spomenuto, često pretvara u status spongiosus. Prema tome taj spongiozni status nije samo odraz tkivnog edema već i vakuolarne degeneracije stanica specifičnog parenhima. Promjene tog tipa vrlo su slične »teškoj bolesti« neurona, po Nisslu, a našli smo ih na raznim mjestima sive supstancije, no ponajviše u moždanom deblu i spinalnoj moždini, manje u bazalnim ganglijima, rjeđe u moždanoj kori, a sasma rijetko u Purkinjeovim stanicama.

Topička analiza degenerativnih promjena živčanog parenhima pokazala je da su celularne promjene apsolutno u vezi sa žarištima tipa I i II upalnih promjena, tj. da odgovaraju multifokalnoj distribuciji cjelokupnog encefalitičkog procesa. One, dakako, po svome rasprostranjenju znatno prelaze veličinu inflamatorno-nekrotičkih tkivnih žarišta, pa to kod obilnijeg grupiranja i konfluiranja žarišta daje na prvi pogled dojam difuznosti ganglijskih lezija. No pažljivim praćenjem topike bilo je teško sa sigurnošću utvrditi oštećenja ganglijskih stanica bez ikakve veze sa upalnim žarištima. Topička analiza degenerativnih promjena ganglijskih stanica naročito je teška u bazalnim ganglijima i moždanom deblu. Kako su, naime, u tim područjima gusto smještene razne strukture i jezre sive supstancije, lako se može dobiti dojam da se u nekima od njih (N. caudatus, putamen, thalamus, vestibularna jezgra, n. ambiguus, jezgra facialisa), odigrava degenerativni proces nezavisno od žarišnih upalnih promjena, dakle po nekom principu selektivne vulnerabilnosti. Međutim, niti odraz tangencijalnog reza kroz jedno žarište tipa I ili II, pri čemu je dobivena samo periferna zona žarišta u kojoj je vidljiva samo degeneracija ganglijskih stanica. To je naročito slučaj sa žarištima tipa II, kod kojih je periferna degenerativna zona šira, a upalna reakcija

uopće oskudna. No ako se s prototipom upalnog procesa žarišta tipa I konfrontira opseg degenerativnog procesa na ganglijskim stanicama, onda taj degenerativni proces dobiva drugačije dimenzije pa izgleda više difuzan i prema tome manje vezan uz upalna žarišta.

Iznimku međutim, čine degenerativne promjene »ishemičkog tipa«, tj. drugog od opisana tri tipa degenerativnih promjena ganglijskih stanica. Te promjene naime nisu fokalne prirode. Kako je već istaknuto one su ponekad vrlo opsežne, a kod njih se i vidi određena topička predilekcija, koja se može usporediti sa zonama selektivne vulnerabilnosti na hipoksiju. To je naročito slučaj sa Purkinjeovim stanicama, stanicama N. dentatusa i pojedinim zonama bazalnih ganglija, gdje se te promjene susreću sasna sigurno i izvan sfere upalnih žarišta.

DISKUSIJA

Iz pregleda obilne literature o eksperimentalnom KE mogao bi se dobiti dojam da je morfologija promjena u centralnom nervnom sistemu dobro poznata i da se radi o jednoj više-manje tipičnoj histopatološkoj manifestaciji. Zbog toga, čini se, interes je novijih istraživača više usmjeren na studij topičke distribucije lezija (*Kovac i Moritsch, Osetowska i sur., Denk i Kovac 1966b*), i specijalne metodike analiza, kao primjenu imunofluorescentne metode (*Albrecht 1959, Albrecht 1962, Albrecht 1963, HanShi-Gie i Pogodina, Osetowska i sur.*), nego na studij morfologije samih lezija, tj. morfološku standardizaciju pojedinih sojeva virusa u klasičnom eksperimentu na klimaksu bolesti. Zbog pomanjkanja podataka iz takovog »pristupnog« ili »standardnog« eksperimenta, odnosno zbog različitih pristupa eksperimentu, vrlo je teško izvršiti usporedbu rezultata među pojedinim autorima, a time je i smanjena mogućnost egzaktno usporedbe svojstava virusa KE iz raznih svjetskih biotopa s obzirom na morfologiju lezija CNS-a. Među sojevima tih virusa postoje, dakako, znatne biološke varijacije u tom pogledu (*Osetowska i sur., Avakjan i sur., Albrecht 1959*), a interferencijom drugih faktora iz provedenih eksperimenata varijacije postaju još veće. Tako je npr. poznato kakvu ulogu igraju same životinje, odnosno razlike osjetljivosti i karakteristike tkivnih reakcija između pojedinih vrsta i sojeva životinja (*Hurst 1931, Ernek i Škoda, Schindler i Krampitz, Verlinde i sur., Albrecht 1959, Simon i sur. 1966a, Simon i sur. 1966b, Simon i sur. 1967a*). Od ne manje važnosti je starost životinje (*Hurst 1950, Albrecht 1959*). Do razlika u morfologiji dovodi i koncentracija upotrijebljenog antigena (*Albrecht 1959, Denk i Kovac 1966a, Simon i sur. 1966a*) i način inokulacije (*Albrecht 1959, Hurst 1950, Simon i sur. 1966a, Simon i sur. 1966b, Simon i sur. 1967a*). Zbog svega je toga neophodno potrebno najprije detaljno upoznati patogene karakteristike određenih sojeva koji se ispituju, na određenoj vrsti i soju pokusne životinje određenom metodom i doći do standarda i kriterija za dalje eksperimente i usporedbe s eksperimentima drugih istraživača. Usporedba će biti pouzdana samo

ako je učinjena s rezultatima onih eksperimenata koji su vršeni na sličan način. To je dosta teško postići, pa se u literaturi stalno susrećemo s komparacijama koje su od relativnog značenja.

Za našu standardizaciju izabrali smo u prvoj seriji eksperimenata metodu kojom smo postigli najtežu moguću kliničku sliku, a histološka istraživanja smo vršili na njenom klimaksu, tj. onda kada se očekuju najteže morfološke promjene. Pri tome smo, dakako, bili svjesni da će se upravo u toj metodici najvjerojatnije pojaviti razni sekundarni mehanizmi patogeneze lezija, no pretpostavljali smo da ćemo, imajući standarde »maksimalnog efekta«, u kasnijim serijama eksperimenata moći postići razne druge gradacije drugim kombinacijama metodike.

Sa stajališta opće neuropatologije svaki proces u centralnom nervnom sistemu uvodi se u krajnjoj liniji na oštećenje živčanog parenhima, tj. ganglijskih stanica odnosno neurona. Činjenica je, međutim, da opće i specijalne reaktivne promjene u intersticiju često morfološki toliko konkuriraju degenerativnim promjenama parenhima da ponekad izrazito dominiraju histološkom slikom. Naročito je to slučaj kod encefalitisa, gdje upalne promjene često dolaze toliko u prvi plan da potisnu sliku degenerativnih promjena u pozadinu. Pri tome je posebno teško interpretirati kronologiju degenerativnog procesa na ganglijskim stanicama i sa sigurnošću diferencirati koje su od degenerativnih promjena prethodile upalnom procesu, koje su njegova posljedica, a koje su opet možda uzrokovane nekim drugim konkurirajućim noksama. Taj je problem kod virusnih encefalitisa posebno naglašen i usprkos mnoštvu eksperimentalnih radova još uvijek predstavlja centralni problem histološkog istraživanja, a i jedan od najvažnijih još nepotpuno istraženih aspekata patogeneze encefalitisa. Poznato je, naime, ne samo da određeni virusi pokazuju izrazitu tendenciju napadanja živčanog parenhima, tj. ulaska u živčane stanice i multipliciranja unutar živčanih stanica, već da mogu ali ne moraju dovesti i do promjena i propadanja stanice (tzv. citopatološki ili citopatogeni efekt). Za to postoji dosta indikacija u histološkim istraživanjima CNS-a napose, kao i, naravno, dokaza na kulturama tkiva uopće (*Burnet, Bethlem, Bodian, Westwood, Pereira*). Zbog toga je jasno da je analiza patologije encefalitisa, a s time i eksperimentalnog KE na celularnoj razini, prisutna u radovima svih istraživača. Pri tome, čini se, degenerativnim se promjenama na ganglijskim stanicama pridaje to veće primarno značenje što se istraživač više zadržao na celularnoj razini, a manje uzimao u obzir značenje ostalih zbivanja na tkivnoj razini. Zbog tih subjektivnih, a vjerojatno i zbog niza navedenih objektivnih razlika (biološke varijacije i razne metodike), postoje prilične diskrepancije između rezultata i stajališta raznih autora o degenerativnom procesu na živčanim stanicama.

Dok *Zabotnijski* i *Svjatuhina* stavljaju degenerativne promjene živčanog sistema u prvi plan, drugi ih spominju kao pojavu paralelnu upalnim tkivnim promjenama (*Avakjan i sur., Verlände i sur., Osetowska i sur., Kovac i Moritsch, Denk i Kovac* 1966a). Razmimoilaženja su u stavovima o predilekciji. Tako neki smatraju osobito vulnerabilnim motor-

ne stanice prednjih rogova spinalne moždine i stanice ponsa (*Kovac i Moritsch, Žabotinski i Svjatušina*), dok drugi u Purkinjeovim stanicama vide najvulnerabilniji element (*Verlinde i sur.*). *Žabotinski i Svjatušina* promjenama na Purkinjeovim stanicama ne pripisuju osobitog značaja i *Kersting* ih bez daljnjega interpretira kao hipoksične. Slično je i sa opisima same citomorfologije, gdje također postoje razmimoilaženja. Većina autora smatra homogenizirajući-koagulativni tip prototipom degeneracije i gotovo specifičnim na virusnu etiologiju encefalitisa (*Kovac i Moritsch, Albrecht 1959, Simon i sur. 1966a, Denk i Kovac 1966a, Osetowska i sur.*). No i među njima ima u finijim opisima tih promjena razlika pa očitno jedni diferenciraju »homogenizirajući« od »hipoksičkog« tipa degeneracije, dok drugi ne ulaze u takovo diferenciranje. I u opisima pojave »vakuolarno-litičkog« tipa degeneracije postoje velike diskrepancije među autorima, pa dok joj neki pripisuju određeni ili veliki značaj (*Albrecht 1959, Žabotinski i Svjatušina, Osetowska i sur., Simon i sur. 1966a*) drugi je jedva i opisuju. Slično je i sa neurofagijom koju većina autora opisuje, neki je ističu kao čestu pojavu (*Žabotinski i Svjatušina, Osetowska i Wroblewska-Mularczyk, Fišer i Rampas, Verlinde i sur.*), a neki je (*Albrecht 1959*) ne nalaze. Od inkluzionih tijela koje su neki autori ispočetka opisivali (*Hurst 1931, Šen i Drobiševska*) potuno se je odustalo, pa je danas općenito prihvaćeno da ih kod KE nema (*Nicolau i sur., Nicolau, Hurst 1959, Žabotinski i Svjatušina*).

Kao što je u opisu naših rezultata izneseno, mi smo primijetili tri osnovna tipa degenerativnih promjena ganglijskih stanica. Iako se možemo složiti s autorima koji »koagulativno-homogenizirajući« i »vakuolarno-litički« tip promjena smatraju karakterističnim za KE, mislimo da se morfološki ni u kom slučaju ne radi o specifičnim promjenama, jer se identične promjene mogu naći i u eksperimentalnom i humanom materijalu raznih drugih oboljenja, uz analizu bojenja anilinskim bojama u svjetlosnom mikroskopu. S tim je, dakako, usko povezan navedeni problem sigurne diferencijacije primarnih, samim virusom izazvanih degeneracija, od eventualnih sekundarnih degeneracija, uzrokovanih nizom mogućih tkivnih patogenih mehanizama.

Kao prvi konkurirajući patogeni faktor mora se u našim zapažanjima svakako uzeti hipoksija. Na to nas upućuje djelomično poklapanje zona predilekcije ganglionarnih promjena s poznatim zonama selektivne vulnerabilnosti na hipoksiju (Purkinjeve stanice, N. dentatus, hipokampus, talamus, pojedine jezgre moždanog debla), iako se ne može isključiti mogućnost paralelizma vulnerabilnosti na virus, to više što je do danas nepoznato kojim metaboličkim mehanizmom virus realizira svoj citopatogeni efekt na stanicu (*Trager, Poetscke i Klammert, Scheidegger*).

Drugi, u našim zapažanjima posebno izraženi fenomen, može također djelomično sadržavati hipoksičku komponentu. Iz naših se, naime, zapažanja vidi da su najteže degenerativne promjene na ganglijskim stanicama bile dosta jasno u vezi s tkivnim upalnim i eksudativnim žarištima, i to naročito s tim posljednjima (Tip II žarišta), dok smo re-

lativno malo promjena na ganglijskim stanicama mogli sa sigurnošću locirati sasna izvan ili bez ikakove veze sa tkivnim žarištima. Ta su žarišta, kao što je poznato, u principu perivaskularna bez obzira da li se radi o čistom inflamatornom vaskularnom procesu kod tipa I, ili o »toksičko-eksudativnom« procesu s hiperemijom i »acelularnom nekrozom«, što se je često vidjelo kod tipa II. U upalnim se žarištima svakako pojavljuju i drugi patogeni mehanizmi, koje treba uzeti u obzir na relaciji krvna žila – ganglijska stanica, gdje se očito odigrava burni proces. Koji dio toga procesa počinje a koji završava na ganglijskoj stanici, vrlo je teško zaključiti, a posebno u eksperimentu s vrlo visokim dozama virusa i histopatološkom analizom na klimaksu bolesti, pri čemu se uklapaju i neki terminalni, agonalni patogeni faktori. U svakom slučaju, degenerativne promjene na ganglijskim stanicama u našem eksperimentu smatramo rezultatom mehanizma koji je multifaktorijelan a za čiju su detaljnu razradu potrebni dalji eksperimenti.

U promjenama na tkivnoj i organskoj razini kod eksperimentalnog KE ima u literaturi najviše podataka, no i tu postoje razna zapažanja i pogledi. U histološkoj slici meningoencefalitisa očito je da postoje razne varijante. Njih se ne može smatrati ni slučajnima, a niti malo važnima, jer – kao kod svakog upalnog procesa – upravo te varijante pružaju značajne informacije o karakteru samog procesa, njegove uzročne nokske te odnosa između uzročnika bolesti i domaćina. Stoga je tim promjenama u našem studiju posvećeno dosta pažnje i one su smatrane važnima za izradu standarda i kriterija analize. Sto se tiče tipa I tkivnih promjena, on u potpunosti odgovara opisima brojnih autora, koji su istakli sastav upalnih infiltrata, sudjelovanje krvnih žila u stvaranju fokalnih žarišta i karakteristično sudjelovanje reaktivne mikroglije (*Zabotnjiski i Svjatuhina, Kovac i Moritsch, Vertunde i sur., Hurst 1931, Albrecht 1959, Avakjan i sur., Osetowska Wroblewska-Mularczyk, Simon i sur. 1966a, Denk i Kovac 1966a*). Slično je i sa nekrotičkom komponentom, iako je ona u našem materijalu bila jače zastupana nego kod nekih drugih autora.

Po našem je mišljenju zanimljiviji tip reakcije koji smo izdvojili kao tip II ili »angioencefalotoksički« tip. Izdvajajući taj tip promjene, mi ne mislimo sugerirati da se radi o nekoj specifičnoj, a niti posebnoj reakciji, već to činimo samo zbog toga da bismo dobili dva ekstremna morfološka standarda na temelju kojih bi se lakše mogao definirati patološki supstrat čitavog procesa. To upravo zbog toga što su opisi u literaturi obično iznošeni kompleksno i često je nemoguće dobiti točan uvid u detalje morfoloških varijacija, pogotovu što su dosta oskudno ponekad opisivani odnosi između stupnja nekroze, edema i celularne reakcije. Dok neki autori ističu edem, odnosno seroznu eksudaciju kao značajni dio patološkog procesa, *Osetowska i sur.* smatraju baš karakterističnim odsutnost edema. Pitanje hemoragične komponente također je otvoreno, i dok je neki uopće ne spominju (*Albrecht 1959, Kovac i Moritsch*), drugi je naglašuju (*Przesmyczky i sur., Avakjan i sur., Osetowska i Wroblewska-Mularczyk, Alfeeva*).

U interpretaciji tih podataka i njihovoj međusobnoj usporedbi i usporedbi s našim zapžanjima postavlja se pitanje koji dio razlike otpada na faktične razlike u svojstvima raznih sojeva virusa, a koliko je toga rezultat niza slučajnih varijacija, razlika u kriterijima gledanja i u tehnici eksperimenata. Uzevši u obzir tehniku našeg eksperimenta, mogli bismo vrlo značajno prisutstvo tipa II promjena u našem materijalu možda pripisati teškoj kliničkoj slici, tj. terminalnim i konsekutivnim patogenetskim mehanizmima, vjerojatno sa hipoksijom kao važnim elementom. No u isto vrijeme ne možemo izbjeći činjenicu da je eksperiment bio vršen s vrlo visokim dozama virusa i na vrlo osjetljivim životinjama, pa se i direktno djelovanje virusa u nastajanju promjena tipa II ne može isključiti kao važan patogenetski faktor.

Iz opisa i grafova distribucije našeg eksperimenta proizlazi, međutim, da su oba tipa promjena bila prisutna u svim našim slučajevima, a postojali su i prijelazi između ta dva tipa. Stoga ih svakako treba uzeti kao sastavne dijelove procesa na vrhuncu bolesti u kome zbog određenih okolnosti jednom prevladava jedan, i drugi put drugi tip morfoloških promjena. Zanimljiva je činjenica koju treba naglasiti da su razlike između intracerebralnih i perifernih inokulacija bile u sve tri grupe veće kod tipa I nego kod tipa II, tj. da je tip II bio kod intraperitonealne i supkutane inokulacije skoro isto toliko zastupan kao kod intracerebralne. Što se tiče predilekcije tkivnih lezija, varijacije su u topičkoj shemi malene, a lezije tipa I i tipa II prilično se dobro poklapaju. One su, kao što smo vidjeli u vezi s krvnim žilama, pa prema tome prate i u određenom smislu angioarhitektoniku, iako je očito da se najjače lezije uvijek okupljaju pretežno u pojedinim regijama, a neke druge regije ostaju upadljivo pošteđene.

Gledajući sa stanovišta tkivne patologije i distribucije procesa, degenerativne promjene na ganglijskim stanicama su, kako je već istaknuto, bile ponajviše u vezi sa žarištima tkivnih promjena tipa I a napose tipa II. To nas upućuje na zaključak da je glavni dio patološkog procesa u našem materijalu u principu *fokalan*. Bez obzira na to gdje je početak procesa, na kojoj je razini primarna alteracija i kakovog je tipa tkivna reakcija, on se ipak u momentu svoje pune floridnosti daje svesti na multifokalnu manifestaciju. Osvrćući se na kraju na zbivanja u glijalnom aparatu, naša zapažanja se ne razlikuju od drugih. U neurogiji smo u našem materijalu vidjeli degenerativne, a manje proliferativne pojave, dok je mikroglija bila dominantni reaktivni element. Pri tome treba naglasiti da smo nailazili na vrlo malo fagocitarne mikrogije, pa čak i na relativno malo neuronofagije, ali na vrlo mnogo proliferacije štapičaste mikroglije, često i sa stvaranjem nodularnih formacija.

ZAKLJUČCI

Iz analize histoloških promjena u centralnom živčanom sistemu bijelog miša inficiranog visokim dozama tri soja naših virusa KE mogli smo zaključiti ovo:

1. Histološka slika na vrhuncu bolesti predstavlja kompleks vrlo teških promjena na celularnom, tkivnom i organskom nivou živčanog sistema.

2. U tim promjenama mogu se razlikovati dva osnovna tipa tkivnih reakcija i tri osnovna tipa degenerativnih promjena na ganglijskim stanicama. To su ekstremni prototipovi među kojima ima i na tkivnoj i na celularnoj razini prijelaza.

3. Od tkivnih prototipova reakcije jedan (Tip I) odgovara klasičnoj upali meningo-encefalitične distribucije, dok drugi (Tip II) morfološki djeluje kao odraz jednog snažnog toksičkog patogenetskog mehanizma. Kombinacije tih dviju tipova ukazuju, međutim, da se radi najvjerojatnije o varijacijama unutar jednog morbidnog kompleksa multifaktorijalne patogeneze.

4. Degenerativne promjene na ganglijskim stanicama mogle su se u našem materijalu korelirati sa žarišnim tkivnim promjenama, pa nam se zbog toga nameće zaključak da je veći dio degenerativnih promjena također fokalne distribucije, tj. da između »upalnih« i »degenerativnih« promjena postoji konstantna relacija.

Iz analize samih degenerativnih promjena ganglijskih stanica nađenih u klimaksu bolesti bilo je nemoguće zaključiti koji dio tih promjena predstavlja primarnu alteraciju zbog citopatološkog djelovanja virusa, a koji je dio nastao sekundarnim mehanizmima za vrijeme razvoja upalne reakcije sa svim njenim funkcionalnim i toksičkim komponentama. Jedan dio degenerativnih promjena smatramo svakako rezultatom hipoksije kao sastavnog dijela samog procesa na vrhuncu bolesti, ili kao konkurirajućeg faktora u terminalnoj fazi bolesti.

5. Patološko-anatomske supstrat ne pokazuje signifikantnih kvalitativnih ni kvantitavnih razlika između naše tri grupe životinja inokuliranih sa tri različita soja virusa ali dozvoljava da se te viruse i na osnovi patološko-anatomske slike bolesti uvrsti u grupu krpeljnog encefalitisa.

LITERATURA

- Albrecht, P.*: Porovnavacia morfologia a experimentalna patogeneza infekcie virusom klieštovej encefalitiidi a virusom encefalomyelitidi koni vychodneho typu (EEE), dizertacija, Virologický ustav ČSAV, Bratislava, 1959.
- Albrecht, P.*: Pathogenesis of experimental infection with tick-borne encephalitis virus. U: *Libikova, H.*: Biology of viruses of tick-borne encephalitis complex, Czechoslovak Acad. Sci., Praha, 1962.
- Albrecht, P.*: Visualisacia antigenov metoduou fluorescentnych protilatok, Statni zdravotnicke nakl., Praha, 1963.

- Alfeeva, S. P.*: Cit. u *Zabotinjskij, J. M. i Svjatuhina, O. A.*: Patomorfologija dvuhvolnovogovirusnog meningoencefalita.
U: Neurovirusne infekcii, Medgiz, Moskva, 1954.
- Arkjan, A. A., Levkovič, I. N., Busnjik, M. M.*: Study of the morphology of nerve cells affected with the viruses of tick borne encephalitis and related disease,
Problems of virology, 5, 22, 1960.
- Bardoš, V., Rosický, B., Vesenjāk-Zmijanac, J.*: Notes on a study of the ecology of the virus of Tick-borne encephalitis in the Slovenian Alps (Yugoslavia),
J. Hyg. Epid. Microb. Immun., 3, 162, 1959.
- Bedjanič, M., Jung, M., Vesenjāk-Hirjan, J., Kmet, J., Lešničar, J., Jung, F., Tovornik, D., Snoj, B.*: Epidemiološki, klinički in laboratorijski študij klopnega meningoencefalitisa v Sloveniji v letih 1960-1963,
Zdrav. vestnik, XXXIII, 10-11, 245, 1964.
- Bedjanič, M., Rus, S., Kmet, J., Vesenjāk-Zmijanac, J.*: Virus meningoencephalitis in Slovenia, I. Epidemiological observations,
Bull. Wld. Hlth. Org., 12, 491, 1955.
- Bethlem, J.*: The significance of inclusion bodies in virus meningo-encephalitis,
U: *Virus Meningo-encephalitis*, CIBA foundation study group, 7, 1961.
- Bodian, D.*: Poliomyelitis: Pathogenesis and Histopathology,
U: *Rivers, T. M., Horsfall, F. L.*: Viral and Rickettsial infection of man. Third edition 1959. Lippincot comp. Philadelphia, Montreal.
- Brudnjak, Z., Šooš, E.*: Ispitivanje naših sojeva virusa krpeljnog encefalitisa s obzirom na rast u kulturi tkiva,
Zbornik IX konferencije mikrobiologa i parasitologa SFR Jugoslavije, 153, 1966.
- Burnet, F. M.*: Principles of animal virology,
Acad. Press, N. York 1955.
- Denk, H., Kovac, W.*: Zur Entwicklung der pathologischen Bildes der experimentellen FSME (Frühsommer-Encephalomyelitis) der Weissen Maus,
Acta Neuropath. 7, 62, 1966a.
- Denk, H., Kovac, W.*: Die experimentelle Frühsommer-Encephalomyelitis (FSME) der weissen Maus. Lokalisation der encephalitischen Läsionen,
Acta Neuropath. 7, 162, 1966b.
- Ernek, E., Škoda, R.*: Eksperimentalna patogenita virusu kličestovej encefalidity pre zlate chrčky *Mesocricetus auratus* (Waterhouse 1838) a pre lišky *Vulpes vulpes* (Linne 1758).
Veter. časopis 7, 334, 1958.
- Fališevac, J., Rulnjevič, J., Bezjak, B., Hellenbach, H., Breitenfeld, J.*: Klinička zapažanja kod krpeljnog meningoencefalitisa,
Lij. vjes. 86, 25, 1964.
- Fišer, J., Rampas, J.*: Dynamika morfologických zen experimentalne vyvolanych encefalitud,
Čs. hyg. epid. mikrob. 1, 49, 1952.
- Grinschgl, G.*: Virus Meningoencephalitis in Austria. 2. Clinical features,
Bull. Wld. Org., 12, 535, 1955.
- Han Shi-Gie, V., Pogodina, V. V.*: Use of fluorescent antibody technique in studies on far-east tick-borne encephalitis in mice, hamsters and pigs,
Acta virol. 8, 22, 1964.
- Hurst, W. E.*: The transmission of Louping-ill to the mouse and monkey: Hystology of the experimental disease,
J. Comp. path. Vol. XIV No 4, 231, 1931.
- Hurst, E. W.*: Some observations on the pathogenesis of Eastern equine encephalomyelitis and Louping-ill in young and old animals.
With special reference to routes of entry of the viruses into the nervous system,
J. Comp. Path. 1950. Vol. 60, 237, 1950.

- Hurst, W. E.*: Osobno saopćenje Cit. u *Albrecht, P.*, Porovnavacia morfologia a experimentalna patogenezia infekcie virusom klištovej encafalitidi a virusom encefalomyelitidi koni vychodneho typu (EEE), dizertacija, Virologicky Ustav ČSAV, Bratislava, 1959.
- Kersting, G.*: Cit u *Grinschgl, G.*: Isolierte Virusstämme aus Österreich, Pathologie der Affenerkrankung.
U *Libikova, H.*: Zeckenencephalitis in Europa, Akademieverlag, Berlin 1961.
- Kmet, J., Vesenjaj-Zmijanac, J., Bedjanič, M., Rus, S.*: Virus meningoencephalitis in Slovenia. I. Epidemiological observations,
Bull. Wld. Hlth. Org. 12, 491, 1955.
- Kovac, W., Moritsch, H.*: Zur pathogenese der Infection der Maus mit dem Virus der menschlichen Frühsommer-Meningoencephalitis,
Zbl. Bakt. Paras. Infekt. Hyg., 174, 440, 1959.
- Likar, M., Kmet, J.*: Virus meningoencephalitis in Slovenia, 4. Isolation of the Virus from the Ticks »Ixodes ricinus«,
Bull. Wld. Hlth. Org., 15, 275, 1956.
- Nicolau, S.*: Inclusions cytoplasmiques dans le cerveau de la souris normale et »inclusions« décrites chez la souris morte après inoculation de louping-ill,
Comp. Rend. Soc. Biol., 114, 441, 1933.
- Nicolau, S., Kapciowska, L., Balmus, G.*: Inclusions cytoplasmiques simulant le corps du Nègri, dans le cerveau de la Souris normale,
Comp. Rend. Soc. Biol., 113, 851, 1933.
- Osteowska, E., Wroblewska-Mularczyk, Z.*: Neuropatologia doswiadalnego kleszczowego zapalenia mozgu,
Neuropat. polska, III, 1-2, 35, 1965.
- Osteowska, E., Wisniewski, H., Wroblewska-Mularczyk, Z.*: Topografia zmian tkankowych a umiejscowienie wirusa w kleszczowym papaleniu mozgu,
Neuropat. polska, III, 1-2; 35, 1965.
- Pereira, H. G.*: The cytopathic effect of animal viruses,
Advances in virus research 8, 245, 1963.
- Poetscke, G., Klammerth, O.*: Virus und Virusinfectionen,
U: *F. Roulet*: Belebte Umweltfaktoren. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1965.
- Pond, W., Russ, S. B.*: Serological aspects of virus meningoencephalitis. A study of the reactions of two viruses isolated during the 1953. epidemics in Slovenia and Austria,
Bull. Wld. Hlth. Org., 12, 591, 1955.
- Przmycky, F., Taisch, Z., Wroblewska, Z., Semkov, R., Stanczyk, R., Kamjeniecka, Z., Kirkowska-Kicinska, H.*: L'encephalite a tique en Pologne,
Ann. Inst. Past. Suppl. 91. 3, 1956.
- Ribarić-Vince, V., Martić, Z., Stihović, Lj.*: Krpeljni encefalitis na području kotara Zadar i Pula.
Lij. vjes. 86, 597, 1964.
- Richling, E.*: Virus Meningoencephalitis in Austria. I. Epidemiological Features,
Bull. Wld. Hlth. Org. 12, 521, 1955.
- Rosicky, B., Tovornik, D., Breljih, S., Nosek, J., Mačička, O.*: Zur Bionomie der Zecke *Ixodes ricinus* L., im Naturherd der Steiner Alpen (Kamniške Alpe - Slovenija),
Čsl. paras. 8, 305, 1961.
- Scheidegger, S.*: Allgemeine Pathologie der Virusinfectionen, U, *F. Roulett*: Belebte Umweltfaktoren.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1965.
- Schindler, R., Krampitz, H. E.*: Über Unterschiede in der Empfänglichkeit verschiedener Mäusestämme und Arten gegenüber dem Virus der Frühsommer-Meningo-Encephalitis (FSME),
Z. Tropenmed. Parasit. 15, 29, 1964.

- Simon, J., Slonim, D., Zavodova, H.*: Experimentelle Untersuchungen von klinischen und subklinischen Formen der Zeckencephalitis an unterschiedlich empfänglichen Wirten: Mäusen, Hamstern und Affen. I. Weise Maus, *Acta Neuropath.* 7, 70, 1966a.
- Simon, J., Slonim, D., Zavodova, H.*: Experimentelle Untersuchungen von klinischen und subklinischen Formen der Zeckencephalitis an unterschiedlich empfänglichen Wirten: Mäusen, Hamstern und Affen. II. Hamster, *Acta Neuropath.* 7, 89, 1966b.
- Simon, J., Slonim, D., Zavodova, H.*: Experimentelle Untersuchungen von klinischen und subklinischen Formen der Zeckencephalitis an unterschiedlich empfänglichen Wirten: Mäusen, Hamstern und Affen. III. Das histologische Bild der subcutanen Inoculation, *Acta Neuropath.* 8, 24, 1967a.
- Šen, P. M., Dobiševskaia, A. I.*: Cit. u *Žabotinskij, J. M., Sejatuhina, D. A.*: Patomorfologija dvuhvolnovogo virusnogo meningoencefalita. U: *Neurovirusne infekcii*, Medgiz, Moskva, 1954.
- Tovornik, D.*: Prispevek k poznavanju klopov Acarina Ixodidae v endemskih področjih meningoencefalitisa v Sloveniji, *Biol. vest.*, 8, 57, 1961.
- Trager, W.*: Intracellular parasitism and symbiosis. U: *Brachet-Myrsky: The Cell*, IV, 1960.
- Verlinde, J. D., Tongeren, H. A. E., Pattin, S. R., Rosenzweig, A.*: Virus meningoencephalitis in Austria. Pathogenesis and immunological properties of the virus, *Bull. Wld. Hlth. Org.* 12, 565, 1955.
- Vesenjak, J.*: Biologie der slowenischen und österreichischen Stämme des Zeckencephalitis Virus. U: *Libikova, H.*: Zeckencephalitis in Europa, Akademieverlag, Berlin 1961, 187.
- Vesenjak, J., Zimolo, A.*: Cit. u *Vesenjak, J.*: Biologie der slowenischen und österreichischen Stämme des Zeckencephalitis Virus. U: *Libikova, H.*: Zeckencephalitis in Europa, Akademieverlag Berlin 1961, 187.
- Vesenjak-Hirjan, J., Egri-Hečimović, E.*: Prilog etiološkoj dijagnostici oboljenja od krpeljnog meningoencefalitisa u SR Hrvatskoj, *Lij. vjes.* 86, 705, 1964.
- Vesenjak-Hirjan, J., Galinović, V.*: Osobno saopćenje.
- Vesenjak-Hirjan, J., Jung, M.*: Neobjavljeni podaci.
- Vesenjak-Hirjan, J., Jung, M., Spalatin, J.*: Dosadašnja istraživanja na području krpeljnog encefalitisa, *Higijena*, 13, 305, 1961.
- Vesenjak-Hirjan, J., Šooš, E.*: Neobjavljeni podaci.
- Vesenjak-Hirjan, J., Tovornik, D., Šooš, E.*: Geographical variety of biotopes containing foci of Tick-borne encephalitis in Yugoslavia. U: *Rosicky, B., Heiberger, K.*: Theoretical questions of natural foci of diseases, Czechoslovak Academy of Sciences 1965.
- Vesenjak-Zmijanac, J., Bedjanič, M., Rus, S., Kmet, J.*: Virus meningo-encephalitis in Slovenia. 3. Isolation of the causative agent, *Bull. Wld. Hlth. Org.* 12, 513, 1955.
- Vince, V., Grčević, N.*: Histopathologie der durch in Jugoslawien isolierten Virusstämme verursachten experimentellen Zeckenzephalitis, *Neuropath. polska* IV, 3-4, 349, 1966.

- Westwood, J. C. N.*: Virus patogenicity. U: *Wilson, Smith.*: Mechanism of virus infection, Academic Press, London and New York 1963.
- Zorinc, S.*: Krpeljni meningoencefalitis na području Bjelovara, Lij. vjes. 86, 45, 1964.
- Zabotinjski, J. M., Svjatihina, O. A.*: Patomorfologija dvuhvolnovog virusnogo meningoencefalita. U: Neurovirusne infekcii, Medgiz, Moskva, 1954.

Zahvaljujemo se dru Eugenu Šoošu za pripremu virusnog inokuluma, kao i za inokulaciju eksperimentalnih životinja.

Iz Zavoda za neuropatologiju Medicinskog fakulteta, Virusološkog odjela Republičkog zavoda za zaštitu zdravlja i Škole narodnog zdravlja »A. Štampar« Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

INFEKCIJE GOVEDA VIRUSOM PARAINFLUENZA 3

Virus parainfluenza 3 (PI 3) svrstan je u grupu *Myxovirusa*. Ova grupa virusa karakteristična je po tome što im je virion manje ili više sferičnog oblika, sadržava ribonukleinsku kiselinu, protein, lipide i hemaglutinin, a ima kapsidu i membranu. Virusi ove grupe osjetljivi su na eter, kloroform, kiselu reakciju od pH 3 i toplinu. Grupa Myxovirusa ima dvije podgrupe, i to podgrupe influencije i Paramyxovirusa. U podgrupu Paramyxovirusa svrstani su virusi parainfluenza 1, 2, 3 i 4, virus mumpsa, virus Newcastle bolesti i Myxovirus Yucaipa. Ovi virusi veliki su oko 150–250 milimikrona i imaju afinitet prema respiratornim organima. Virusi parainfluenza 1, 2 i 4 patogeni su za čovjeka, a virus parainfluenza 3 patogen je za čovjeka i govedo.

Virus PI 3 prvi su opisali *R. M. Chanock i sur.* godine 1958. kod djece s respiratornim simptomima bolesti. Virus su izolirali na kulturi tkiva bubrega majmuna. Godine 1959. isti virus izolirali su *R. C. Reisinger, K. L. Heddeston i C. A. Manthei* u Sjedinjenim Državama Amerike iz goveda koja su bolovala od tzv. »*shipping fever*« (transportna groznica). O izolaciji virusa PI 3 u goveda objavljeni su zatim brojni izvještaji u mnogim krajevima svijeta. U svim slučajevima radi se o akutnom oboljenju goveda s respiratornim ili pretežno respiratornim simptomima. Dokazano je da su svi goveđi spojevi virusa PI 3 srodni, ali da se razlikuju od humanih sojeva virusa PI 3.

Izolacija virusa PI 3 povezana je obično s pojavom respiratornog oboljenja u teladi, junadi ili odraslih goveda. U Švedskoj su *Z. Dinter i K. Bakos* dokazali istovremenu infekciju goveda virusom PI 3 i virusom virusne dijareje. Pojava bolesti parainfluenzija 3 povezana je često s transportom goveda na veće udaljenosti. Zbog toga je bolest nazvana u SAD i Švedskoj »*shipping fever*« ili transportna groznica. Međutim bolest se može pojaviti u nekom stadu i bez prethodnog transporta. Često

je bolest povezana s nekim faktorom koji snizuje otpornost životinja (nepovoljan smještaj, nepravilna prehrana). Virus PI 3 nađen je na sluznicama zdravih goveda kao i onih koja su imala samo prolaznu febru bez vidljivih kliničkih znakova bolesti. O patogenosti virusa PI 3 mišljenja su u početku bila podvojena. Međutim *A. O. Betts i sur.* nedvojbeno su dokazali da je virus PI 3 patogen za govedo. Oni su inficirali virusom PI 3 telad dobivenu histerektomijom. Inficirana telad oboljela je nakon tri dana uz febru i promjene na respiratornim organima. Sekcijom utvrđena je pneumonija a iz oboljelih životinja izoliran je samo virus PI 3.

Čini se da je virus PI 3 veoma raširen u uzgojima goveda. Tako su *A. B. Hoerlein i sur.* dokazali antitijelo protiv virusa PI 3 u 68,6% pretraženih goveda oboljelih sa znacima transportne groznice u SAD. *K. Bakos i Z. Dinter* pretražili su u Švedskoj veći broj životinja u 41 uzgoju na antitijela protiv virusa PI 3. Oni su pretraživali samo one uzgoje za koje su sumnjali da su zaraženi tim virusom. U 82% slučajeva dokazali su specifična antitijela protiv virusa PI 3. Samo u dva uzgoja goveda nisu našli specifična antitijela za virus PI 3, ali su u tim uzgojima prevladavali intestinalni simptomi oboljenja. Pretražili su također i serume goveda i teladi s klaonice. Ove životinje sakupljene su iz svih krajeva Švedske. Specifična antitijela protiv virusa PI 3 našli su u 70% goveda i 48% teladi. O nalazu specifičnih antitijela protiv virusa PI 3 u goveda u SR Njemačkoj izvještava *K. Bögel*. On je dokazao ova antitijela skoro u svakom uzgoju goveda koji je pretražio. Pretragom 24 uzgoja goveda u pokrajini Baden-Württemberg dokazao je specifična antitijela protiv virusa PI 3 u 82% seruma goveda. On smatra da je nalaz antitijela u tako visokom postotku dokaz i ranije preboljele infekcije, a ne samo svježe infekcije. Obično obole goveda mlada od 2 godine, a enzootije se javljaju naročito kada je vrijeme vlažno i hladno. *A. Mayr i sur.* vršili su također istraživanja prisustva specifičnih antitijela protiv virusa PI 3 u goveda u SR Njemačkoj. Goveda su imala vrlo često specifična antitijela protiv virusa PI 3 (74%). Oni su također opazili da obično obole telad i junad mlada od 2 godine. Telad mlada od 4–6 sedmica mogu također oboljeti ako ne dobiju specifična antitijela kolostrumom.

P. S. Dawson i J. H. Darbyshire vršili su istraživanja u Engleskoj. Pretražili su 2.000 seruma goveda i u 83,6% slučajeva našli su u njima specifična antitijela protiv virusa PI 3. *Z. Dinter* pretražio je serume goveda iz Finske i u 56% slučajeva našao je u njima specifična antitijela protiv istog virusa. Pretraženi su samo serumi goveda iz uzgoja, u kojima je bilo oboljenja prednjih dišnih organa.

Y. Inaba i sur. pretražili su dvije grupe govedih seruma na antitijela protiv virusa PI 3. U prvoj grupi našao je 26,5%, a u drugoj 37,2% pozitivnih seruma. *J. F. Harbourne* pretražio je serume goveda iz stada u kojima se javlja pneumonija. U 82–85% pretraženih seruma našao je

antitijela protiv virusa PI 3. *L. B. Fastier* i *N. F. Hansen* našli su u serumima mliječnih krava u Novom Zelandu u 98% slučajeva antitijela protiv virusa PI 3. Pretraživali su samo serume životinja koje su bile ranije bolesne sa znacima katara prednjih zračnih prohoda. Telad od 2-4 dana uvijek su imala u serumu visok titar antitijela protiv virusa PI 3.

VLASTITA ISTRAŽIVANJA

Oboljenja respiratornih organa postala su posljednjih godina problem mnogih uzgoja teladi i junadi kod nas. Radi toga smo i mi započeli istraživati etiologiju tih oboljenja. Najvažniju ulogu kod tih oboljenja imaju virusi, i to naročito virus parainflucije 3. Zbog toga smo i započeli istraživati infekcije prouzročene tim virusom u goveda. Najprije smo pokušali izolirati virus iz goveda koja su imala izrazite simptome respiratorne infekcije, a nakon toga smo pretražili veći broj seruma goveda na sadržaj specifičnih antitijela protiv virusa PI 3.

Prvi put dokazali smo parainfluciju 3 u goveda na ekonomiji koja je imala u tovu oko 900 junadi od oko 8 mjeseci i 50 teladi od 2-3 mjeseca. Staje za odrasliju telad i junad bile su otvorenog tipa s nadstrešnicama za hranilište, pojilište i ležište s otkrivenim oborima. Pod u stajama je od betona, a kanalizacija je loše provedena. Životinje se hrane koncentratima, silažom i sijenom, a voda je tekuća. Dio teladi smješten je u staje klasičnog tipa. Nekoliko dana prije našeg dolaska na ekonomiju oboljelo je mnogo junadi i teladi. Znaci bolesti bili su febra, iscjedak iz nosa, hiperemija nosne sluznice, suzenje, jaki kašalj i ubrzano disanje. Životinje nisu uzimale hranu, a tjelesna toplina bila im je od 40-41,5°C. Iz nosa i usta imale su obilan iscjedak. U svježijih oboljenja iscjedak je bio serozan, a u onih koja su trajala već više dana, iscjedak je bio mukozan do mukozno-purulentan. Neke životinje imale su na sluznici nosa erozije. Kašalj je bio učestao i vlažan. U nekoliko slučajeva opažen je i proljev. Na ekonomiju je dopremljena pred par dana telad transportom od više stotina kilometara. Ova telad je također oboljela, ali su simptomi bili relativno blagi.

Za izolaciju virusa uzimali smo materijal brisom iz nosa teladi sa seroznim isjetkom tj. iz svježijih slučajeva oboljenja. Bris smo uzimali sa smotuljkom vate na metalnom štapiću, koji je prije uporabe steriliziran u epruveti. U posebne epruvete stavili smo po 4 ml hranilišta za izolaciju pripremljenog po metodi koju je opisao *F. Bürki*. Bris smo uronili u hranilište za izolaciju i pretresli ga, da se što više materijala odvoji od brisa. Epruvetu s uzetim materijalom stavili smo zatim u termos-boce s ledom i dostavili ih odmah u laboratorij. U laboratoriju smo materijal do vršenja pretrage pohranili u hladnjak na -20°C. Prije nasadivanja materijal smo otopili na sobnoj toplini, a zatim ga preko noći stavili u hladnjak pri +4°C. Nakon toga materijal smo centrifugirali 40 minuta sa 3.000 okretaja, odvojili gornji bistri dio tekućine i upotrijebili je za izolaciju virusa.

Materijal smo nasadivali na kulturu stanica govedeg embrionalnog bubrega. Osim toga koristili smo se i kulturom telećih testisa. Hranilište za rast pripremili smo ovako: uzeli smo 89,5 ml otopine Hanksa, 10 ml telećeg seruma, 0,5 ml hidrolizati laktalbumina te 100 i. j/ml penicilina i 100 mg/ml streptomicina. Pomoću 8% NaHCO₃ korigirali smo pH hranilišta na pH 7,2. Prije nego su stanice narasle u kontinuirani sloj, hranilište smo po potrebi nekoliko puta mijenjali. Bubrežne stanice narasle su u kontinuirani sloj za 5-7 dana, a stanice testisa za 3-4 dana.

U hranilište za održavanje kulture dodali smo pri primoizolaciji i u prvoj pasaži 5% inaktiviranog konjskog seruma.

Citopatogeno djelovanje virusa. Na izrasle kulture stanica inokulirali smo ispitujući materijal u količini od 0,1 do 0,2 ml. Idućih 5 dana nismo na sloju stanica opazili nikakve promjene. Tada smo materijal iz primoizolacije prenijeli na istovrsnu kulturu stanica (slijepa pasaža). Već nakon 48 sati opazili smo na stanicama jednog inokuliranog materijala kidanje kontinuiteta staničnog sloja i degenerativne promjene na približno jednoj četvrtini stanica. U iduća dva dana sve su stanice propale, a ostaci stanica plivali su u kulturelnoj tekućini. Ovu kulturu stavili smo zatim u hladnjak na -20°C do ponovne pasaže. U nekoliko idućih pasaža ovog materijala na kulturi stanica promjene na stanicama postale su još intenzivnije. Ove citopatogene promjene izazvao je neki virus kojeg smo pokušali determinirati.

Izolirani virus determinirali smo tako da smo ga ispitati usporedno sa švedskim sojem Umeå virusa PI 3. Pokusi su pokazali da naš soj apsorbira eritrocite u kulturi stanica 1-3 dana iza inokulacije (hemadsorpcija), ali da ova pojava izostaje ako se prije dodatka eritrocita kultura stanica tretira imunim serumom protiv soja Umeå virusa PI 3. Citopatogeni efekt s degeneracijom stanica bio je kod našeg soja jednak kao i u soja Umeå. U pokusu neutralizacije virusa i inhibicije hemaglutinacije (IHA) specifični serum protiv soja Umeå virusa PI 3 spriječio je citopatogeno djelovanje našeg soja virusa i neutralizirao je njegov hemaglutinin. Na temelju ovih nalaza zaključili smo da je virus koga smo mi izolirali iz goveda identičan sa sojem Umeå virusa PI 3.

Da bismo provjerili koje značenje imaju infekcije virusom PI 3 u našim uzgojima goveda, izvršili smo serološka istraživanja na većem broju goveda s raznih ekonomija.

U tim serumima istraživali smo pojavu antitijela protiv virusa PI 3. Time smo željeli dokazati da su ta goveda bila inficirana virusom PI 3. Krv smo uzimali od teladi, junadi i krava u nekoliko većih ekonomija u okolici Zagreba. Također smo pretražili i veći broj seruma goveda od individualnih uzgajaa na istom području. Životinje na velikim gospodarstvima pokazivale su povremeno, pa i za vrijeme uzimanja krvi, znakove oboljenja prednjih dišnih organa. Serološke pretrage vršili smo pokusom IHA. Ova metoda pokazala se kao pouzdana i s njom su i drugi istraživači provjeravali nalaz antitijela protiv virusa PI 3 u goveda. Kao antigen poslužio nam je virus PI 3 (soj R-2-V) kojeg smo dobili od K. Bögela. Virus smo umnožili na kulturi stanica govedeg embrionalnog

bubrega i nakon što je oko 3/4 stanica propalo zbog citopatogenog djelovanja virusa kulturu smo iskoristili kao antigen. U toku pokusa virus smo držali na +4°C. Neposredno prije svakog pokusa ispitali smo hemaglutinacijski (HA) titar virusa. Pokuse smo vršili s 0,5% suspenzijom eritrocita zamorčeta. Pokuse HA i IHA vršili smo na način kako su to opisali *P. S. Dawson* i *J. H. Darbyshire*, i to na sobnoj toplini. Rezultate smo očitavali nakon 40–60 minuta. Kao najniži pozitivan nalaz uzeli smo titar IHA u razrjeđenju od 1 : 32.

Istražili smo serume 146 odraslih goveda i 725 teladi i junadi. Pozitivan nalaz antitijela protiv virusa PI 3 našli smo u 125 goveda (85,6%) i 606 teladi i junadi (83,5%). Postotak pozitivnih nalaza veoma je visok, ali je sličan kao u nekim drugim zemljama. Ovaj nalaz dokaz je da su te životinje bile u kontaktu s virusom PI 3. Infekcija može biti svježija, ali i starija. Svježe infekcije mogu se dokazati izolacijom virusa i praćenjem porasta titra antitijela protiv virusa PI 3 u krvi goveda. Mi smo u više navrata uzimali krv od životinja u početku bolesti te zatim nakon 3–4 sedmice. Na taj način dokazali smo porast titra specifičnih antitijela što je dokaz svježe infekcije. Premda je etiologija virusnih oboljenja dišnih organa u goveda veoma kompleksna, čini se da su infekcije goveda s virusom PI 3 kod nas veoma česte.

ZAKLJUČAK

Na temelju naših istraživanja možemo zaključiti da su infekcije virusom PI 3 veoma česte u uzgojima goveda u Hrvatskoj. To potvrđuju česti nalazi specifičnih antitijela protiv virusa PI 3 u goveda s raznih ekonomija u okolici Zagreba. Od bolesnih životinja uspjeli smo izolirati virus parainfluenca 3.

LITERATURA

- Bakos, K., Z. Dinter: Zbl. Bakt. I. O. 180, 1, 1960.*
Bakos, K., Z. Dinter: Nature 185, 549, 1960.
Berry, D. M.: Vet. Bull. 32, 725, 1962.
Betts, A. O., A. R. Jennings, A. R. Omar, Z. E. Page, J. B. Spencer, R. G. Walker: Vet. Rec. 76, 382, 1964.
Bögel, K.: Mh. Tierhkdte 13, 129 i 162, 1961.
Bögel, K.: Mh. Tierhkdte 14, 77, 1962.
Bürki, F.: Mh. Tierhkdte 14, 321, 1962.
Bürki, F.: Zbl. Vet. Med. 9, 749, 1962.
Bürki, F.: 22. Jahresvers. Schweiz. Mikrobiol. Ges. Basel 1963. Pathol. Mikrobiol. 26, 717.
Chanock, R. M., R. H. Parrott, K. Cook, B. E. Andrews, J. A. Bell, T. Reichelder, A. Z. Kapikian, F. M. Mastropa, R. J. Huebner: N. Engl. J. Med. 258, 207, 1958.

- Čvetnić, S., E. Topolnik, D. Petrović, M. Kralj, Z. Brudnjak: Vet. arhiv* 34, 326, 1964.
1964.
- Čvetnić, S., Z. Dinter, E. Topolnik, M. Kralj, D. Petrović: Vet. arhiv* 35, 127, 1965.
- Dawson, P. S., J. G. Cruickshank: Vet. Rec.* 75, 333, 1963.
- Dawson, P. S., J. H. Darbyshire: Vet. Rec.* 76, 111, 1964.
- Dinter, Z., K. Bakos: Bull. Office Intern. Epizoot.* 56, 29, 1961.
- Dinter, Z., S. Hermodsson, L. Hermodsson: Virology* 22, 297, 1964.
- Dinter, Z.: Eripainos Suomen Eläinlääkärilehti* 70, 57, 1964.
- Fastier, L. B., N. F. Hansen: N. Z. vet. J.* 14, 27, 1966.
- Harbourne, J. F.: Vet. Rec.* 78, 749, 1966.
- Hoerlein, A. B., C. L. Marsh: J. A. V. M. A.* 131, 123, 1957.
- Hoerlein, A. B., M. E. Mansfield, F. R. Abinanti, R. J. Huebner: J. A. V. M. A.* 135, 153, 1959.
- Huck, R. A.: Vet. Bull.* 32, 493, 1962.
- Huck, R. A.: Vet. Bull.* 34, 239, 1964.
- Inaba, Y., M. Kono, T. Omori, M. Matumoto: Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.* 4, 145, 1964.
- Inaba, Y., M. Kono, T. Omori, M. Matumoto: Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.* 5, 59, 1965.
- Ketler, A. V., V. Hamparian, M. R. Hilleman: J. Immun.* 37, 126, 1961.
- Liess, B. W., W. Höpken: Zbl. Bakt. I. O.* 186, 437, 1962.
- Mayr, A., I. Kalich, B. Mehnert: W. t. Monatsschr. Festschr. Prof. Dr. J. Michalka* 74, 1964.
- Reisinger, R. C., K. L. Heddleston, A. C. Manthei: J. A. V. M. A.* 135, 147, 1959
- Rindom Schiot, C., Hyldgaard Jensen: Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 56, 479, 1962.
- Youngner, J. S.: Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 85, 202, 1959.
- Priljeno na sjednici Odjela za medicinske nauke 14. IV 1967.*

*Iz Zavoda za mikrobiologiju i zarazne
bolesti Veterinarskog fakulteta Sve-
učilišta u Zagrebu*

D. IKIĆ i M. JUZBAŠIĆ

DALJE ATENUIRANI VIRUS MORBILA
EDMONSTON-ZAGREB

I. UVOD

1. 1. *Historijski pregled*

Pokušaji stvaranja aktivnog imuniteta protiv morbila umjetnim putem sežu daleko u prošlost. Već u 18. stoljeću razvijen je u Škotskoj postupak sličan variolizaciji koji je dobio ime morbilizacija (*Home* 1759). U 20. vijeku pokušaji stvaranja umjetnog imuniteta postaju intenzivniji te se razvijaju najrazličitije metode imunizacije. Tako se djeci grijanjem inokulira inaktivirana krv bolesnika od morbila ili opet fenolom tretirana tekućina kultura tipa Noguchi za koju se vjerovalo da sadrži virus morbila (*Savini* 1923).

Drugi su autori pokušali intranazalno inokulirati djeci virus morbila adaptiran na pileći embrio (*O'Neil i sur.* 1940).

Ritossa i Molé su na sličan način pokušali izazvati modificirano oboljenje virusom kultiviranim u embrionu pileta (*Ritossa i Molé* 1941).

Japanci su pokušali vakcinirati djecu virusom adaptiranim na pileći embrio (*Taniguchi i sur.* 1956). Arakawa je opisao adaptaciju virusa morbila na mlade miševe poslije intracerebralne inokulacije. Nakon serijske pasaže s miša na miša, agens je pokazivao izvjesnu atenuaciju i predloženo je za pripremu vakcine (*Arakawa* 1949).

1954. godine *Enders i Peebles* pokazali su da se virus morbila može uzgajati u kulturama humanih i majmunskih stanica (*Enders i Peebles* 1954), a 1960. godine objavili su *Enders i suradnici* rezultate svog uspješnog rada na atenuiranju virusa morbila. Dobiveni atenuirani soj nazvan je Edmonston B i od njega je priređena prva vakcina protiv morbila (*Enders i sur.* 1960).

Sovjetski stručnjaci pokušali su atenuirati virus morbila serijskim pasażama u tkivu pluća humanog embriona i u pilećem embrionu (*Zdanok i Fadeeva* 1956).

U 1963. godini Edmonston B vakcina odobrena je za masovnu profilaksu morbila u SAD, a u 1964. godini odobrena je i Edmonston B vakcina priređena u supstratu primarnih stanica psećeg bubrega. Sojevi virusa od kojih su priređene ove dvije vakcine ne spadaju u grupu dalje atenuiranih virusa morbila. U 1956. godini odobrena je u SAD za masovnu upotrebu i dalje atenuirana živa vakcina protiv morbila priređena sojem Edmonston-A-Schwarz.

U 1967. godini prišlo se u SSSR-u masovnoj primjeni žive atenuirane vakcine protiv morbila priređene sojem Lenjingrad 16, koji spada u grupu dalje atenuiranih virusa.

U 1967. godini u Jugoslaviji je odobrena za masovnu upotrebu dalje atenuirana vakcina protiv morbila priređena sojem Edmonston-Zagreb, koji također spada u grupu dalje atenuiranih virusa.

1. 2 Značaj morbila

Morbili, male boginje ili ospice predstavljaju – uz zaraznu žuticu i akutna prehladna oboljenja – glavni problem zdravstvene službe na području akutnih virusnih bolesti. Samo u SR Hrvatskoj registrira se godišnje oko 15.000 oboljele djece od ospica, a registracija, vjerujemo, nije potpuna. Ospice iz godine u godinu postaju sve veći i teži socijalno-medicinski problem.

U područjima gdje se provodi redovito cijepljenje i docjepljivanje djece neke su dječje zarazne bolesti – kao difterija, dječja paraliza, hripavac i druge – na taj način iskorištenje. To je razlog zašto su danas kod nas, u tako izmijenjenoj strukturi poboljšavanja djece, ospice postale najznačajnije dječje zarazno oboljenje.

Ne samo da su morbili jedna od najraširenijih bolesti, jer ih preboli više od 90% ljudi u djetinjstvu, nego se ta bolest javlja razmjerno često u teškoj formi u loše ishranjene i rahitične djece i u djece rane dobi. Komplikacije na respiratornom traktu isto tako su česte i teške. Prema podacima one se kreću od 15 do 18%.

Komplikacije na centralnom nervnom sistemu imaju veliko značenje. Na 400 do 1000 slučajeva morbila javlja se po jedan slučaj meningoencefalitisa. Za ozbiljnost te komplikacije govori visoka smrtnost (10 do 30%) i visok postotak trajnih posljedica (40%). Napokon, pojava morbila u toku neke bolesti može prognozu te bolesti znatno pogoršati – npr. prognozu tuberkuloze.

O smrtnosti od morbila vrlo je teško sakupiti tačne podatke jer su uzroci smrti većinom komplikacije pa se umrli najčešće registriraju pod tom dijagnozom.

U zdravstveno nesređenim sredinama, u okolnostima nedovoljne prosvijećenosti i nefikasne zdravstvene službe, epidemije ospica izazivaju svake godine vrlo teške posljedice.

Sve te činjenice upozoravaju na to da svu pozornost treba svratiti na prevenciju ove bolesti, a tek je uspješna priprema i primjena vakcine omogućila masovnu zaštitu od morbila.

1. 3 Supstrat za priređivanje virusnih vakcina

Još prije nekoliko godina supstrat za priređivanje svih virusnih vakcina bile su žive životinje. Uspješan razvitak tehnike kulture stanica pružio je veće mogućnosti za razvijanje virusnih vakcina, a stanice bubrega majmuna postale su popularne kao supstrat za umnažanje virusa radi toga što se do njih može lako doći i što su omogućile razvijanje vakcine protiv poliomijelitisa (*Enders i sur.* 1949). Povećani interes za ispitivanje i kontrolu ovog supstrata pokazao je da te stanice mogu sadržavati B virus (*Sabin* 1949) kao i mnoge druge majmunske viruse te SV₄₀ – prvi onkogeni virus koji može transformirati humane stanice i koji je onkogen za hrčke (*Sweet i Hilleman* 1960). U najnovije vrijeme otkriveno je jedno hemoragično oboljenje koje se prenosi od majmuna na čovjeka (*Martin i sur.* 1968, *Siegert i sur.* 1968, *Smiths i sur.* 1967). Iz svega toga proizlazi da je za pripremu svake žive virusne vakcine namijenjene za primjenu kod ljudi važan ne samo soj virusa od kojega se vakcina priprema nego i kultura stanica, odnosno supstrat koji se upotrebljava za razmnažanje atenuiranog virusa.

U SAD je danas kao supstrat za razmnažanje virusa morbila u svrhu priređivanja vakcine odobrena kultura stanica pilećih fibrioblasta koji potječu od RIH negativnih jata peradi (*Endes i sur.* 1960). U SAD je prihvaćena kao druga alternativa i kultura stanica pasjih bubrega od određenog, strogo kontroliranog uzgoja štedani (*Musser i Slater* 1962), te služi kao supstrat za priređivanje virusnih vakcina. Neki autori su se orijentirali na kulturu stanica embriona pačeta ili bubrega kunića (*Hilleman* 1966). U SSSR-u se za priređivanje vakcine protiv morbila upotrebljava kultura stanica bubrega zamorca (*Smorodincev i sur.* 1964). Kao daljnja alternativa predložena je linijska (serijska) kultura humanih diploidnih stanica (HDS) u kojoj stanice imaju sve karakteristike normalnih stanica (*Hayflick i Moorhead* 1961). Mi smo se još 1962. godine orijentirali na tu alternativu za priređivanje virusnih vakcina, na humane diploidne stanice. Razlog za to naveden je u jednom ranijem saopćenju (*Ikić* 1963a). Nakon pet godina ispitivanja ovog supstrata (karakteristike supstrata i virusa razmnoženog u HDS) 4. marta 1968. godine Jugoslavija je postala prva zemlja koja je za priređivanje vakcine protiv poliomijelitisa i za njenu masovnu primjenu odobrila novi sistem za priređivanje virusnih vakcina, liniju humanih diploidnih stanica.

2. PROGRAM, MATERIJAL I METODE ISPITIVNJA

Svrha našeg rada bila je dalje atenuiranje virusa Edmonston pomoću pasiranja virusa u humanim diploidnim stanicama uz očuvanje zadovoljavajuće imunogene sposobnosti, te pročišćavanje i stabiliziranje virusa pomoću plakiranja u HDS (Wi-38). Napokon, u toku ovog postupka očekivala se i adaptacija virusa na supstrat HDS (Wi-38), što bi ujedno bio i odgovor na pitanje da li je ovaj supstrat podesan za priređivanje vakcine protiv morbila.

Program rada uključivao je 19 pasiranja Edmonston virusa u HDS (Wi-38) na 37° C uz povremeno mjerenje koncentracije virusa u toku njegova umnažanja u stanicama Wi-38. U toku pasiranja Edmonston virus bio je i 3 puta plakiran.

Edmonston soj pasiran je dalje u humanim diploidnim stanicama Wi-38 u inkubatorima na 37° C. Kao hranilište za stanične kulture korišten je Eagleov medij uz dodatak 10% telećeg seruma. Prva promjena hranilišta izvršena je nakon 48 sati, a nakon toga hranilište je mijenjano svaka tri do četiri dana. Nakon što je citopatogeni efekt (CPE) zahvatio preko 50% stanica u kulturi, izvršena je daljnja pasaža virusa.

Kulture diploidnih stanica na kojima je izvršeno plakiranje virusa Edmonston priredene su u Petrijevim pločama promjera 6 cm. Kulture u ovim pločama su inkubirane u termostatu s reguliranom vlagom i protokom zraka uz 5% CO₂. Virus je inokuliran na ove kulture bez hranjivog medija, koji je dodan tek nakon adsorpcije od 30 minuta. Nakon 24 sata izvršena je promjena hranjivog medija, pri čemu je nov medij sadržavao i 1% Noble agara. Nakon slijedeća tri dana mikroskopski je utvrđen položaj pojedinih plakova. Da bi se plakiranje moglo uspješno izvršiti izabrani su oni plakovi koji su se nalazili dovoljno udaljeni od ostalih, tj. plakovi oko kojih se na udaljenosti od 1 cm nije nalazio nijedan drugi plak. Položaj odabranih plakova je označen, a agar izvučen pomoću savinute staklene cjevčice i presađen u epruvetu s kulturom humanih diploidnih stanica Wi-38. Koncentracija virusa je utvrđivana određivanjem TCID₅₀ na kulturi HeLa stanica u epruvetama.

3. POSTUPAK ATENUIRANJA I REZULTATI

Svrha atenuiranja virusa je da se različitim laboratorijskim postupcima virus oslabi tako da ne izaziva jake kliničke reakcije nakon primjene žive virusne vakcine, a da se pri tom ne ošteti njegova sposobnost da izaziva stvaranje solidnog imuniteta.

Za atenuiranje virusa morbila pojedini su autori upotrebljavali različite kulture stanica kao: primarne stanice humanog bubrega, primarne stanice humanog amniona, primarne stanice pasjeg bubrega, primarne stanice bubrega zamorca, primarne stanice pilećih fibroblasta kao i oplodena kokošja jaja.

Umnažanje virusa u kulturi tkiva vršilo se na temperaturama od 30° C do 37° C.

Svi sojevi koje danas upotrebljavamo za masovnu aktivnu profilaksu morbila, izuzevši soja Lenjingrad 16, potječu od prvog atenuiranog soja virusa morbila Edmonston.

U tabeli 1 prikazan je postupak atenuiranja virusa morbila za priređivanje vakcine kako ga je izvršio *Enders* i drugi autori.

Enders je za atenuiranje virusa morbila upotrijebio primarnu kulturu tkiva humanih bubrega (24 pasaže) i humanog amniona (28 pasaža) (*Enders i sur.* 1960). *Enders* je svoj soj, prije nego što ga je ustupio

Tabela 1
ATENUACIJA VIRUSA MORBILA

Naziv soja	Broj pasaža na kulturi tkiva							Temperatura za rast	Plakiranje	Dalje atenuirani virus
	Humani bubreg p. s.	Humani amnion p. s.	Pileći embrio	Pileći fibroblasti p. s.	Pasji bubreg p. s.	Bubreg zamorca p. s.	HDS Wi-38			
Edmonston A	24	28	6	12	—	—	—	37°	—	—
Edmonston B	24	28	6+6	13	—	—	—	37°	—	—
Edmonston-Musser	24	28	22	—	15	—	—	33° 37°	—	—
Edmonston Beckenham 20	24	28	6+6	71	—	—	—	33° 37°	—	+
Edmonston-Milovanović	24	28	6+6	94	—	—	—	37°	—	+
Edmonston-Schwarz	24	28	6	85	—	—	—	32° 37°	—	+
Edmonston-Zagreb	24	28	22	—	15	—	19	33° 37°	3×	+
Lenjingrad 16	—	—	—	—	—	24	—	30° 35°	—	+

p. s. = primarne stanice

Hillemanu za priređivanje vakcine u pilećim fibroblastima, pasirao najprije 6 + 6 puta u pilećem embrionu, a zatim 13 puta u pilećim fibroblastima i nazvao ga Edmonston B. Musser je od Endersa dobiveni Edmonston soj pasirao još 22 puta u pilećem embrionu, a zatim 15 puta u kulturi stanica psećeg bubrega i tim sojem pripremio vakcinu (Musser i Slater 1962).

Neki su autori smatrali da su postvakcinalne reakcije koje daju vakcine priređene naprijed navedenim sojevima suviše izražene, te su, da bi reakcije umanjili, prišli daljem atenuiranju virusa Edmonston. Dalje atenuiranje soja Edmonston pokušalo se postići pasiranjem soja u kulturi stanica pilećih fibroblasta (Goffe 1964, Milovanović 1965, Schwarz 1964).

Schwarz je Edmonston soj 85 puta pasirao u pilećim fibroblastima.

Ovaj soj ima sve karakteristike dalje atenuiranog soja. Od autora navedenih u tabeli jedino se Smorodincev nije služio Edmonston sojem, nego vlastitim sojem kojega je atenuirao u primarnim kulturama stanica bubrega zamoraca na temperaturama od 30 do 35°C (Smorodincev i sur. 1964).

Mi smo u dalje atenuiranje Edmonston virusa unijeli dva nova momenta:

a) Pasiranje virusa u striktno kontroliranoj liniji humanih diploidnih stanica (Wi-38).

b) Plakiranje virusa u toku pasiranja.

Razlozi ovakvom pristupu problemu daljeg atenuiranja virusa morbila su slijedeći: Pasiranje virusa u HDS (Wi-38) na 37°C imalo je svrhu da umanjí virulenciju Edmonston soja, da ga dalje atenuira i istovremeno da se virus adaptira na HDS (Wi-38) tako da se prilikom priređivanja vakcine u ovom supstratu postigne visok titar virusa. Pored toga pasiranje virusa Edmonston u striktno kontroliranoj liniji HDS (Wi-38), kao i plakiranje virusa u istom supstratu, trebalo je da ga oslobodi eventualnih popratnih virusa tako da bi matični virus predstavljao homogenu, genetski stabilnu populaciju partikula virusa koji bi potjecali iz jednog plaka.

Za pasiranje virusa upotrebljavali smo humane diploidne stanice Wi-38 od 20. do 30. pasaža.

Niz postupaka kojima smo došli – polazeći od virusa Edmonston – do virusa Edmonston-Zagreb, bili su slijedeći:

1. *vir pasaža*: 3 epruvete sa kulturom Wi-38 (pasaža 21) inokulirane su sa po 0,5 ml virusa Edmonston. U jednoj od te tri epruvete nakon 19 dana inkubacije CPE je zahvatio 50% stanica te je ova epruveta upotrijebljena za slijedeću virusnu pasažu.

2. *vir pasaža*: Od 2 ml virusne suspenzije prve virusne pasaže upotrijebljeno je 1,5 ml za inokulaciju tri nove epruvete sa Wi-38 (pasaža 23) dok je 0,5 ml virusne suspenzije prve pasaže smrznuto. U jednoj od inokuliranih epruveta zadovoljavajući CPE pojavio se nakon 14 dana, te je virus iz ove epruvete upotrijebljen za slijedeću virusnu pasažu.

3. *vir. pasaža*: 1,5 ml virusne suspenzije druge virusne pasaže inokulirano je na kulturu Wi-38 (pasaža 25), uzgojenu u bočici po Breed-Demeteru. Nakon 9 dana CPE je bio zadovoljavajući. Time smo dobili 20 ml virusne suspenzije u ovoj virusnoj pasaži, od kojih smo 15 ml smrznuli, a 5 ml upotrijebili za novu virusnu pasažu.

4. *vir. pasaža*: Ovih 5 ml virusne suspenzije inokulirano je u bočicu po Breed-Demeteru s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 27). U ovoj virusnoj pasaži zadovoljavajući CPE bio je nakon 11 dana. Od dobijene virusne suspenzije 15 ml smo smrznuli, a 5 ml upotrijebili za slijedeću virusnu pasažu.

5. *vir. pasaža*: 5 ml virusne suspenzije četvrte virusne pasaže inokulirano je u bočicu po Breed-Demeteru s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 28) i nakon inkubacije od 9 dana dobijen je zadovoljavajući CPE. 5 ml virusne suspenzije upotrijebljeno je za slijedeću virusnu pasažu, a 15 ml smrznuto.

6. *vir. pasaža*: 5 ml virusne suspenzije pete virusne pasaže inokulirano je u bočicu po Breed-Demeteru s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 28) i nakon inkubacije od 7 dana dobijen je zadovoljavajući CPE. 15 ml virusne suspenzije je smrznuto, a 5 ml upotrijebljeno je za slijedeću virusnu pasažu.

7. *vir. pasaža*: 5 ml virusne suspenzije šeste virusne pasaže inokulirano je u bočicu po Breed-Demeteru s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 28) i nakon inkubacije od 5 dana dobijen je zadovoljavajući CPE. 15 ml virusne suspenzije je smrznuto, a 5 ml upotrijebljeno je za slijedeću virusnu pasažu.

8. *vir. pasaža*: 5 ml virusne suspenzije sedme virusne pasaže inokulirano je u bočicu po Breed-Demeteru s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 23) i nakon inkubacije od 7 dana virusna suspenzija je skupljena. 0,5 ml virusne suspenzije upotrijebljeno je za slijedeću pasažu, a ostalo je smrznuto.

9. *vir. pasaža*: 0,5 ml virusne suspenzije osme virusne pasaže inokulirano je na kulturu Wi-38 (pasaža 25) uzgojenu u Petrijevoj ploči za plakiranje. Plakiranje je izvršeno nakon 5 dana. Pri plakiranju su uočeni plakovi različitih oblika, a za plakiranje je izabran veći plak pravilnog okruglog oblika i glatkih rubova.

10. *vir. pasaža*: Pikirani plak presađen je u epruvetu s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 25). U ovoj epruveti uočen je povoljan CPE nakon 6 dana. Od 2 ml virusne suspenzije 1,5 ml je smrznut, a 0,5 ml virusa upotrijebljeno je za slijedeću virusnu pasažu.

11. *vir. pasaža*: 0,5 ml virusne suspenzije desete virusne pasaže inokulirano je na kulturu Wi-38 (pasaža 27) uzgojenu u Petrijevoj ploči, gdje su uočeni odgovarajući plakovi nakon 4 dana.

12. *vir. pasaža*: Izabran je ponovo plak pravilnog okruglog oblika glatkih rubova i presađen u epruvetu s kulturom Wi-38 (pasaža 26) gdje je izazvao odgovarajući CPE nakon 7 dana.

13. *vir. pasaža*: 0,5 ml virusne suspenzije dvanaeste virusne pasaže inokulirano je na kulturu Wi-38 (pasaža 27) uzgojenu u Petrijevoj plочи u kojoj su se pojavili odgovarajući plakovi nakon 4 dana inkubacije.

14. *vir. pasaža*: Ponovno je izabran veći, pravilno okrugli plak glatkih rubova te pikiran i presađen u epruvetu s kulturom Wi-38 (pasaža 27) gdje je dobijen odgovarajući CPE nakon 6 dana inkubacije. Na taj način dobijeno je 2 ml virusne suspenzije, od kojih je 1,5 ml upotrijebljeno za slijedeću pasažu, a 0,5 ml je smrznuto.

15. *vir. pasaža*: 1,5 ml virusne suspenzije petnaeste virusne pasaže inokulirano je u bočicu po Breed-Demeteru s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 27). Nakon 6 dana inkubacije uočen je povoljan CPE. Dobivenih 20 ml virusne suspenzije upotrijebljeno je za dobivanje veće količine pročišćenog virusa.

16. *vir. pasaža*: 4 bočice po Breed-Demeteru s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 28) inokulirane su sa po 5 ml virusne suspenzije petnaeste virusne pasaže. Nakon inkubacije od 5 dana nađen je povoljan CPE. Time je dobijeno 80 ml virusne suspenzije šesnaeste virusne pasaže, od čega je 40 ml upotrijebljeno za slijedeću virusnu pasažu, a 40 ml je smrznuto.

17. *vir. pasaža*: 8 Breed-Demeter bočica s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 28) inokulirano je sa po 5 ml virusne suspenzije šesnaeste virusne pasaže. Nakon inkubacije od 6 dana nađen je zadovoljavajući CPE. Dio dobijene virusne suspenzije je smrznut, a dio je upotrijebljen za slijedeću virusnu pasažu.

18. *vir. pasaža*: 4 bočice po Breed-Demeteru s uzgojenom kulturom Wi-38 (pasaža 29) inokulirano je sa po 5 ml virusne suspenzije pasaže 17. Nakon 5 dana inkubacije dobijen je povoljan CPE. 40 ml ove virusne suspenzije je spremljeno, a 40 ml je upotrijebljeno za slijedeću virusnu pasažu.

19. *vir. pasaža*: Na uzgojenu kulturu Wi-38 (pasaža 30) u 2 Roux boce inokulirano je po 20 ml virusne suspenzije osamnaeste virusne pasaže. Nakon inkubacije od 5 dana dobijen je povoljan CPE. Time je dobijeno ukupno 200 ml virusne suspenzije titra TCID₅₀ 10⁸/0,5 ml. Ova suspenzija je korištena kao matični virus za proizvodnju vakcine.

Shema postupaka kojima smo došli do dalje atenuiranog virusa morbila Edmonston-Zagreb prikazana je na tabeli 2.

Citopatogeni efekt (CPE) u kulturi HDS (Wi-38) pojavio se u roku od 19 dana nakon prve inokulacije virusa Edmonston.

U toku daljih pasaža virusa ovaj se interval skraćivao i u kasnijim pasažama trebalo je svega nekoliko dana pa da se razvije citopatogeni efekt u 50% stanica kulture HDS (Wi-38).

Plakiranje virusa je izvršeno u 9, 11. i 13. virusnoj pasaži. Pri prvom plakiranju uočeni su plakovi različitih oblika. Za dalje plakiranje izabran je veći plak pravilnog okruglog oblika i glatkih rubova. U drugom i trećem plakiranju izbor plaka izvršen je na isti način.

U staničnoj kulturi humanih diploida virus je stvarao do plakiranja različite forme CPE – od pojedinačnih stanica izmijenjenih djelovanjem virusa, gigantskih stanica različitog oblika i veličine, pa sve do širokih područja membranskog izgleda. Ova se slika donekle zadržala i nakon prvog plakiranja. Međutim, poslije trokratnog plakiranja CPE virusa ovaj je bio jednoličnog izgleda, a sastojao se od većih gigantskih stanica s ravnim rubovima i pojedinim izdancima kojima su te stanice međusobno povezane.

U terenskim ispitivanjima vakcina protiv morbila priređene sojem Edmonston-Zagreb jasno se razlikovala od vakcine priređene sojem Edmonston. Postvakaalne reakcije bile su blage, što pokazuje da je virus Edmonston-Zagreb zaista dalje atenuiran. Povišenje temperature javljalo se u raznim terenskim ispitivanjima kod 15–30% cijepljene djece. Pored toga Edmonston-Zagreb soj sačuvao je svoju imunogenu sposobnost. Imunitet nakon cijepljenja bio je zadovoljavajući, jer je kod više od 90% djece – koja prije cijepljenja nisu imala u serumu antitijela – četiri tjedna nakon cijepljenja nastalo četverostruko povišenje titra antitijela. Dalje podatke o postvakaalnim reakcijama i jačini imuniteta cijepljene djece kao i o njihovoj korelaciji s koncentracijom ubrizganog virusa, iznijet ćemo u slijedećem saopćenju.

4. RAZMATRANJE REZULTATA

4. 1 *Postupak atenuiranja*

Atenuiranje virusa mnogobrojnim pasażama u primarnim kulturama stanica krije u sebi potencijalnu opasnost da matični virus sadrži i neki od popratnih virusa kojima su primarne stanice u kojima se vrši pasaža virusa – domaćin. Poznato je da su neki matični virusi poliomijelitisa sadržavali SV₄₀ virus za koga je kasnije utvrđeno da spada u grupu onkogenih virusa i da može transformirati normalne humane stanice, kao što su i neki matični virusi – atenuirani u oplodjenim kokošnjim jajima, odnosno pilećim fibroblastima – sadržavali viruse ptičje leukoze (*Black i Torado 1965, Koprowski i sur. 1962, Murray 1967*). Činjenica je da se u kulturama primarnih stanica stalno otkrivaju novi popratni virusi koji mogu biti i patogeni za čovjeka. Popratne viruse u kulturama primarnih stanica teško je kontrolirati jer one potječu od velikog broja individua, a serijski se ne kultiviraju. Zbog toga je atenuiranje i priređivanje matičnog virusa u ovim supstratima vezano uz stanovite opasnosti.

Po našem mišljenju linija normalnih humanih diploidnih stanica (Wi-38) ima izvjesne prednosti pred primarnim stanicama, jer je ovdje omogućena striktna kontrola popratnih agensa koja se u našim laboratorijima vrši već niz godina upotrebljavajući sve danas poznate metode.

Tabela 2
**SHEMA POSTUPAKA KOJIMA SMO DOŠLI OD VIRUSA EDMONSTON
 DO EDMONSTON-ZAGREB**

Virusna pasaža	Tkivo	P o s u d a		Inokulum	Inkubacija u danima	Dobijena količina virusne suspenzije		Titar virusa
		Vrsta	Kol.			Upotrebjeno za slijedeće pasaže	Smrznuto na —70°C	
1	Wi-38 pas. 21	epruveta	3	0,5 ml	19	1,5 ml	0,5 ml	—
2	Wi-38 pas. 23	epruveta	3	0,5 ml	14	1,5 ml	0,5 ml	—
3	Wi-38 pas. 25	B-D*	1	1,5 ml	9	5 ml	15 ml	—
4	Wi-38 pas. 27	B-D	1	5 ml	11	5 ml	15 ml	—
5	Wi-38 pas. 28	B-D	1	5 ml	9	5 ml	15 ml	—
6	Wi-38 pas. 28	B-D	1	5 ml	7	5 ml	15 ml	—
7	Wi-38 pas. 28	B-D	1	5 ml	5	5 ml	15 ml	—
8	Wi-38 pas. 23	B-D	1	5 ml	7	0,5 ml	19,5 ml	—

9	Wi-38 pas. 25	Petri ploča**	1	0,5 ml	5	pikirani plak	—	—
10	Wi-38 pas. 25	epruveta	1	pikirani plak	6	0,5 ml	1,5 ml	—
11	Wi-38 pas. 27	Petri ploča	1	0,5 ml	4	pikirani plak	—	—
12	Wi-38 pas. 26	epruveta	1	pikirani plak	7	0,5 ml	1,5 ml	—
13	Wi-38 pas. 27	Petri ploča	1	0,5 ml	4	pikirani plak	—	—
14	Wi-38 pas. 27	epruveta	1	pikirani plak	6	1,5 ml	0,5 ml	—
15	Wi-38 pas. 27	B-D	1	1,5 ml	6	20 ml	—	—
16	Wi-38 pas. 28	B-D	4	5 ml	5	40 ml	40 ml	—
17	Wi-38 pas. 28	B-D	8	5 ml	6	20 ml	140 ml	—
18	Wi-38 pas. 29	B-D	4	5 ml	5	40 ml	40 ml	—
19	Wi-38 pas. 30	Roux boca	2	20 ml	5	100 ml	100 ml	TCID ₅₀ 10%/0,5 ml

* = bočica po Breed-Demeteru

** = Petri ploča promjera 6 cm

Po našem mišljenju matični virus ima uniformna i stabilna svojstva i predstavlja homogenu suspenziju virusnih partikula samo ako matični virus potječe od jedne partikule virusa odnosno jednog plaka.

Iz ovih smo razloga kao supstrat za dalje atenuiranje odabrali liniju humanih diploidnih stanica (Wi-38) i uključili 3 plakiranja u toku 19 virusnih pasaža.

Pasiranje virusa u HDS (Wi-38) imalo je svrhu da umanjí virulenciju Edmonston soja i da ga dalje atenuira (istovremeno da se virus adaptira HDS (Wi-38) tako da se postigne visok títar virusa prilikom priređivanja vakcine u ovom supstratu). Pored toga, pasiranje virusa Edmonston u striktno kontroliranoj liniji HDS (Wi-38) kao i plakiranje virusa u istom supstratu, trebalo je da ga oslobodi eventualnih popratnih virusa ukoliko ih je imao. Napokon, virus koji smo dobili na koncu ovog postupka morao je predstavljati homogenu, genetski stabilnu populaciju partikula virusa koji bi potjecali iz jednog plaka.

Ovo je ujedno i prvi pokušaj da se humane diploidne stanice kao linijska kultura upotrijebe i za atenuiranje virusa. Ovaj postupak do sada nije nitko upotrijebio i on je konačno doveo do dobivanja virusa Edmonston-Zagreb koji se razlikuje od Edmonston virusa što izaziva u kratkom roku CPE u kulturi HDS (Wi-38) i daje u ovom supstratu visoki títar, a virus potječe od većih i okruglih plakova s glatkim rubovima. Zbog toga vjerujemo da Edmonston-Zagreb soj predstavlja čistu, homogenu suspenziju virusnih partikula.

4. 2 Supstrat za priređivanje vakcine protiv morbila

Nedostaci primarnih stanica kao supstrata za priređivanje vakcine dobro su poznati. One sadrže često viruse koji mogu biti i patogeni za čovjeka, a neki od njih imaju i onkogeno svojstva. Ovo pitanje mi smo u više navrata (*Ikić 1964b, Ikić 1965a, Ikić 1965b*) kritički razmotrili. Problem neškodljivosti supstrata za priređivanje vakcina postao je još složeniji nakon otkrića da se samo jedan dio onkogenog virusa, genom, može inkorporirati u jedan drugi virusni virion i tako dovesti do stvaranja hibrida koji posjeduje onkogeno svojstva. Mi, prema tome, moramo biti na oprezu radi kontaminacije ne samo samim onkogenim infektivnim virusom nego i njegovim genom (*Huebner i sur. 1964, Rowe i Baum 1964*).

U naporu da se izbjegnu nedostaci primarnih stanica, linija humanih diploidnih stanica (Wi-38) postala je predmetom sve većeg našeg interesa kao novi supstrat za priređivanje virusnih vakcina, jer smatramo da postoji opća potreba za supstratom koji se može temeljitije ispitati i certificirati, supstratom koji se može upotrijebiti za priređivanje mnogih različitih vakcina (*Hayflick 1967, Ikić 1965c i 1967b*).

Prednost humanih diploidnih stanica je u tom što mogu biti dobro karakterizirane, što su osjetljivije na izvjestan broj virusa i što mogu služiti za priređivanje različitih vakcina.

Upotreba dobro karakteriziranih supstrata za priređivanje virusnih vakcina jednako je važan kao i upotreba dobro karakteriziranog matičnog virusa. Problem neškodljivosti supstrata za priređivanje virusnih vakcina jednako je važan kao i problem neškodljivosti matičnog virusa.

Linija humanih diploidnih stanica prihvaćena je kao supstrat za priređivanje žive, oralne vakcine protiv poliomijelitisa u našoj zemlji i mi smo kao prva zemlja u svijetu odobrili ovaj tip vakcine za masovnu upotrebu 1968. godine, poslije pet godina ispitivanja ne samo HDS (Wi-38) nego i svojstava atenuiranih virusa poliomijelitisa razmnoženih u ovom supstratu (*Ikić 1967a, Ikić i sur. 1968*). Imajući u vidu da će se i za priređivanje vakcine protiv morbila u budućnosti linija humanih diploidnih stanica (Wi-38) pokazati kao najsigurnija, mi smo Edmonston-Zagreb soj u toku atenuiranja adaptirali na ovaj novi supstrat. Kao dokaz adaptacije virusa Edmonston-Zagreb na kulturu humanih diploidnih stanica (Wi-38) može nam poslužiti činjenica da je virusu u prvih pet pasaža bila potrebna inkubacija od 9 do 19 dana da bi izazvao citopatogeni efekt u više od 50% stanica. Za isti efekt u zadnjih 5 pasaža bilo je potrebno 5–6 dana.

Na adaptaciju virusa Edmonston-Zagreb upućuje i činjenica da se virus u 19. pasaži u HDS toliko umnožio da je dosegao vrlo visoki titar od 10^6 log.

Sama činjenica da je virus Edmonston dalje atenuiran u kulturi HDS jasno pokazuje da serijsko pasiranje humanog virusa u liniji humanih diploidnih stanica (Wi-38) ne povećava virulenciju virusa.

Iz svega što je ovdje izneseno proizlazi da HDS (Wi-38) predstavljaju vrlo podesan supstrat za priređivanje vakcine protiv morbila na bazi virusa Edmonston-Zagreb. Prema tome mi sada raspoložemo ne samo novim, dalje atenuiranim virusom Edmonston-Zagreb nego ga čak možemo uspješno razmnažati i u novom supstratu HDS (Wi-38) koji po našem mišljenju ima prednost pred supstratima koji se danas upotrebljavaju u drugim zemljama za priređivanje vakcine protiv morbila (primarna kultura pilećih fibroblasta i primarna kultura stanica bubrega psa u USA, odnosno primarna kultura bubrega zamorca u SSSR-u).

4. 3 Reaktogenost dalje atenuiranog virusa Edmonston-Zagreb

Sadašnje je stanje u svijetu takvo da za provođenje masovnih akcija cijepjenja protiv morbila imamo na raspolaganju vakcinu priređenu iz Endersovog atenuiranog soja Edmonston, zatim vakcinu priređenu dalje atenuiranim sojem Edmonston – naknadnim pasiranjem u kulturi pilećih fibroblasta – kao što je soj Edmonston-Schwarz, te vakcinu priređenu od soja Lenjingrad 16 kojega je Smorodincev atenuirao na kulturi stanica bubrega zamorca i napokon našu vakcinu dobivenu naknadnim atenuiranjem soja Edmonston pasiranjem na HDS na 37° C i trostrukim plakiranjem u istom supstratu.

Imajući na umu značenje morbila kao velikog socijalno-zdravstvenog problema i potrebu za efikasnim sredstvom za prevenciju te bolesti, uz prihvatljive postvakcinalne reakcije, mi smo u suradnji s drugim stručnjacima od 1962. godine do danas organizirali niz ispitivanja vakcina kako inozemnih tako i vlastitih radi uspoređivanja pozitivnih i negativnih osobina naprijed spomenutih vakcina protiv morbila. Rezultati jednog dijela naših ispitivanja publicirani su (*Ikić i sur.* 1963b, 1964a i 1966, *Ikić* 1967c). I naša iskustva kao i iskustva drugih autora slažu se da vakcina pripremljena od atenuiranog soja Edmonston izaziva vakcinalnu bolest koja podsjeća na oslabljene morbile. Povišenje temperature javlja se kod 60–90% cijepljene djece (*Katz i sur.* 1960. i 1962, *Kempe i sur.* 1960, *Lepow i sur.* 1960, *Reilly* 1961, *Smorodincev i sur.* 1960). Ovaj problem pokušao se riješiti ili simultanom primjenom gama globulina ili prethodnim cijepljenjem inaktiviranom vakcinom (*Crumb i sur.* 1962, *Ikić i sur.* 1963b i 1964a, *Karelitz i sur.* 1965, *Krugman i sur.* 1962. i 1964, *Markham i sur.* 1962, *Norrby* 1967, *Stokes i sur.* 1961, 1962a i 1962b, *Warren i Robbins* 1962, *Weibl i sur.* 1962). Međutim, ovi se postupci nigdje u svijetu ne primjenjuju u masovnoj vakcinaciji.

Radi toga, jedino razvijanje dalje atenuiranih sojeva virusa morbila rješava na zadovoljavajući način pitanje postvakcinalnih reakcija, jer povišenje temperature iza vakcinacije Edmonston-Schwarz vakcinom i Lenjingrad 16 vakcinom iznosi oko 30%. Postotak postvakcinalnih reakcija Edmonston-Zagreb vakcinom još je niži. Povišenje temperature pojavljuje se kod 15–30% cijepljenih osoba, a četverostruko povećanje titra 4 tjedna nakon cijepljenja seronegativne djece iznosi preko 90%.

Sve što je naprijed izneseno o svojstvima virusa Edmonston-Zagreb jasno ukazuje da je ovaj virus vrlo podesan za aktivnu profilaksu morbila jer izaziva vrlo blage postvakcinalne reakcije i pruža zadovoljavajući imunitet. I po svojim blagim postvakcinalnim reakcijama virus Edmonston-Zagreb jasno se razlikuje od virusa Edmonston.

ZAKLJUČAK

Polazeći od virusa Edmonston putem 19 pasaža u liniji humanih diploidnih stanica (Wi-38), uključivši i 3 plakiranja, došli smo do virusa Edmonston-Zagreb. Virus Edmonston-Zagreb razlikuje se od virusa Edmonston što u kratkom roku izaziva citopatogeni efekt u kulturi humanih diploidnih stanica (Wi-38) i daje u ovom supstratu visoki titar, a virus potječe od većih okruglih plakova sa glatkim rubovima. Vakcina priređena virusom Edmonston-Zagreb izaziva povišenje temperature kod 15–30% cijepljenih osoba, a Edmonston virus kod 60–90%. I pored toga što je virus Edmonston-Zagreb mnogo dalje atenuiran od Edmonston virusa, on je zadržao svoja imunogena svojstva tako da četverostruko povećanje titra – kod seronegativnih osoba – 4 tjedna iza cijepljenja iznosi preko 90%.

LITERATURA

- Arakawa, S.* (1949): Experimental study on measles virus (Second report), *Jap. J. exp. Med.* 20, 351.
- Black, P. H.* and *G. J. Torado* (1965): In vitro transformation of hamster and human cells with the adeno 7 SV40 hybrid virus. *Nat. Acad. Sci. USA*, 54, 374.
- Crumb, F., J. Bulkeley, R. Hornick, M. Snyder* and *Y. Togo* (1962): Clinical trial with living attenuated measles-virus vaccines, *Amer. J. publ. Hlth.* 52, 11.
- Enders, J. F., T. H. Weller* and *F. C. Robbins* (1949): Cultivation of Lansing strain of poliomyelitis virus in various embryonic tissues, *Science*, 109, 85.
- Enders, J. F.* and *T. C. Peebles* (1954): Propagation in tissue cultures of cytopathogenic agents from patients with measles, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 86, 277.
- Enders, J. F., Katz, S. L., Milovanović, H. V.* and *A. Holloway* (1960): Studies on an attenuated measles-virus vaccine. Development and preparation of the vaccine: technics for assay of effects of vaccination, *New Engl. J. Med.*, 263, 153.
- Goffe, A. P.* (1964): Some experiences with the Beckenham 20 vaccine, *Compt. rend. Symposium int. sur la standardisation des vaccins contre la rougeole et la serologie de la rubéole*, Lyon 1964, 39.
- Hayflick, L.*, and *P. S. Moorhead* (1961): The serial cultivation of human diploid cell strains, *Exp. Cell Res.*, 25, 585.
- Hayflick, L.* (1967): The primary problem with virus vaccines, 1st int. Conference on Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases of Man, Washington 1966, *Pan Amer. Hlth Org. Scient. Publ.*, No. 147, 581.
- Hilleman, M. R.* (1966): Advances in control of viral infections by non-specific measures and by vaccines, with special reference to mumps and rubella virus vaccines, *Clin. Pharmacol. Therap.* 7, 752.
- Home, F.* (1959): *Medical facts and experiments*, Millar, London, 266.
- Huebner, R. J., Chamock, R. M., Rubin, B. A.* and *M. J. Casey* (1964): Induction by adenovirus type 7 of tumors in hamsters having antigenic characteristics of SV40 virus, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 52, 1333.
- Ikić, D.* (1963a): Speculation on tissue culture systems coming into consideration for the preparation of viral vaccines, *Proc. Symp. »The characterization and uses of human diploid cell strains«*, Opatija 1963, 357.
- Ikić, D., Manhalter, T.* and *B. Mravunac* (1963b): Testing of measles virus vaccine, *Proc. Symp. »The characterization and uses of human diploid cell strains«*, Opatija 1963, 615.
- Ikić, D., Mravunac, B., Manhalter T., Hećimović, M. i P. Miletić* (1964a): Dosadašnji rezultati ispitivanja neškodljivosti i zaštitne vrijednosti žive atenuirane vakcine protiv morbila uz istovremenu primjenu gama globulina, *Lijekovi*, 2, 79.
- Ikić, D.* (1964b): Some information on HDCS as a new system for the production of live poliomyelitis vaccine, *Proc. 10th Europ. Symp. on Poliomyelitis and Allied Diseases*, Warszawa 1964, 488.
- Ikić, D.* (1965a): Recent information on poliomyelitis vaccine, live, oral, prepared in human diploid cell strain system, *Lisbon 1964, Progr. immunobiol. Standard. Karger, Basel/New York*, 2, 305.
- Ikić, D.* (1965a): Recent information on poliomyelitis vaccine, live, oral, prepared in human diploid cell strain system, *Lisbon 1964, Progr. immunobiol. Standard. Karger, Basel/New York*, 2, 356.
- Ikić, D.* (1965): Symposium on the Characterization and Uses of Human Diploid
- Ikić, D.* (1965c): Possibility of establishing reference preparation for HDCS (Wi-38), *Radovi Imun. zavoda*, 3-4, 31.
- Ikić, D., B. Mravunac, T. Manhalter, M. Hećimović* and *P. Miletić* (1966): Report on vaccination with further attenuated measles vaccine (Schwarz strain) in Croatia, *Radovi Imun. zavoda*, 5-6, 147.

- Ikić, D.* (1967a): Poliovaccines prepared in human diploid cells, 1st int. Conference on Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases of Man, Washington 1966, Pan Amer. Hlth Org. Scient. Publ., No. 147, 185.
- Ikić, D.* (1967b): Vaccines produced in diploid cell lines. Cell Cultures for Virus Vaccine Production Conference for the Division of Biologies Standards, Nat. Inst. Hlth, Bethesda, Maryland 1967. U štampi.
- Ikić, D.* (1967c): Rad Imunološkog zavoda u Zagrebu na ispitivanju i masovnom priređivanju vaccine protiv morbila, *Pharmaca*, 5, 353.
- Ikić, D., B. Jančić, M. Branica and T. Manhalter* (1968): The safety of human diploid strains for man; A controlled study of symptoms occurring after the administration of WM-3 living attenuated poliovirus vaccine prepared in the Wi-38 human diploid cell strain, *Amer. J. Epid.*, 87, 411.
- Karelitz, S., A. Schluederberg, P. Kanchanavates, M. Aral and H. I. Acs* (1965): Killed measles vaccine prior to seven months of age followed by attenuated live virus vaccine at nine months, *Ach. ges. Virusforsch.*, 16, 343.
- Katz, S., J. Enders and A. Holloway* (1960): Studies on an attenuated measles-virus vaccine, II *New Engl. J. Med.*, 263, 159.
- Katz, S., J. Enders and A. Holloway* (1962): The development and evolution of an attenuated measles-virus vaccine, *Amer. J. publ. Hlth*, 52, 5.
- Kempe, H., E. Ott, V. Vincent and J. Maisel* (1960): Studies on an attenuated measles-virus vaccine, III. *New Engl. J. Med.*, 263, 162.
- Koprowski, H., J. A. Ponten, F. Jensen, R. G. Ravidin, P. Moorhead and E. Saksela* (1962): Transformation of cultures of human tissue infected with simian virus SV40. *J. Cell Physiol.*, 59, 281.
- Krugman, S., J. Giles and H. Friedman* (1962): Comparative clinical, antigenic and prophylactic effects following inoculation with and without gamma globulin, *Amer. J. publ. Hlth*, 52, 16.
- Krugman, S., S. Stone, R. Hu and H. Friedman* (1964): Measles immunization incorporated in the routine schedule for infants; Efficacy of a combined inactivated live vaccination regimen. *Pediatrics*, 34, 795.
- Lepow, M., N. Gray and F. Robbins* (1960): Studies on an attenuated measles virus vaccine, V. *New Engl. J. Med.*, 263, 174.
- Markham, F., H. Cox and J. Rengsegger* (1962): A summary of field experiences with live virus measles vaccine, *Amer. J. publ. Hlth*, 52, 57.
- Martini, G. A., H. G. Knauff, H. A. Schmidt, G. Mayer und G. Baltzer* (1968): Uebaine bisher unbekannte, von Affen eingeschleppte Infektionskrankheit: Marburg Virus-Krankheit, *Dtsch. med. Wsvhr.*, 93, 559.
- Milovanović, M. V.* (1965): Live measles vaccine trials in Yugoslavia, Seminar on the Epidemiology and Prevention of measles and rubella, Paris 1964, *Arch. ges. Virusforsch.*, 16, 231.
- Murray, R.* (1967): Contemporary problems in regulation the potency and safety of viral vaccines, 1st int. Conference on Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases of Man, Washington 1966, Pan Amer. Hlth Org. Scient. Publ., No. 147 577.
- Musser, S. J. and E. A. Slater* (1962): Measles virus growth in canine renal cell cultures, *Amer. J. Dis. Child.*, 103, 476.
- Norrbu, E.* (1967): Present status of killed measles vaccine, 1st int. Conference on Vaccines against Viral and Rickettsial Diseases of Man, Washington 1966, Pan Amer. Hlth Org. Scient. Publ., No. 147, 301.
- O'Neil, G. C., J. Stokes Jr., M. F. Shaffer and G. Rake* (1940): Virus of measles grow in developing chick embryo, *Amer. J. Dis. Child.*, 60, 757.
- Reilly, C. M.* (1961): Living attenuated measles-virus vaccine in erly infancy, Studies of passive antibody in immunization, *New Engl. J. Med.*, 265, 165.

- Ritossa, P. and F. Molé (1941): Versuche zur Züchtung des Masernvirus auf der Chorioallantois des Hühnerembryos, Arch. ges. Virusforsch., 2, 53.
- Rowe, W. P. and S. C. Baum (1964): Evidence for a possible genetic hybride between adenovirus type 7 and SV40 virus, Proc. Nat. Acad. Sci., 52, 1340.
- Sabin, A. B. (1949): Fatal B virus encephalomyelitis in a physicial working with monkeys, J. clin. Invest., 28, 808.
- Savini, E. (1923): Essais de vaccinothérapie préventive dans le typhus exanthématique, la scarlatine et la rougeole, Comp. rend. Soc. Biol., 89, 694.
- Schwarz, A. J. (1964): Some factors affecting the potency testing of a further attenuated live measles vaccine, Compt. rend. Symposium int. sur la standardisation des vaccins contre la rougeole et la sérologie de la rubéole, Lyon 1964, 34.
- Siegert, R., H. L. Shu und W. Slenczka (1968): Isolierung und Identifizierung des »Marburg-Virus«, Dtsch. med. Wschr., 93, 604.
- Smith, G. C. E., D. I. H. Path, M. B. Simpson, E. T. W. Bowen and I. Zlotnik (1967): Fatal human disease from vervet monkeys, Lancet, 11, 1119.
- Smorodincev, A., L. Boičuk, E. Šikina, T. Batanova, L. Bistriakova and T. Peradze (1960): Clinical and immunological response to live tissue culture vaccine against measles, Acta Virologica, 4, 201.
- Smorodincev, A., L. Boičuk, L. Taros i E. Šikina (1964): Osnovnyje napravljenija i itogi aktivnoj imunizaciji protiv kori, Trudy Inst. Epid. Microbiol. Im. Pasteura, 28, 7.
- Stokes, J. Jr., M. Hilleman, R. Weibl, E. Buynak, Halenda and M. Goldner (1961): Efficacy of live attenuated measles-virus vaccine given with human immune globulin, A preliminary report. New Engl. J. Med., 265, 507.
- Stokes, J. Jr., M. Hilleman, R. Weibl, E. Buynak and R. Halenda (1962a): Persistent immunity following Enders live attenuated measles-virus vaccine given with human immune globulin, New Engl. J. Med., 267, 222.
- Stokes, J. Jr., R. Weibl, R. Halenda, C. Reilly and M. Hilleman (1962b): Studie of live attenuated measles-virus vaccine in man, I. Clinical aspects. Amer. J. publ. Hlth, 52, 29.
- Sweet, B. H. and M. R. Hilleman (1960): The vaculating virus SV40, Proc. Soc. exp. Biol. Med., 105, 420.
- Taniguchi, T., Y. Okuno, A. Aoyama and K. Kusumoto (1956): Detectivn of measles virus in egg culture and studies on prophylactic inoculation with living measles virus, Med. J. Osaka Univ., 6, 1013.
- Warren, R. and F. Robbins (1962): Prevention of viral diseases, Pediatrics, 30, 862.
- Weibl, R., R. Halenda, J. Stokes Jr., Hilleman and E. Buynak (1962): Administration of Enders live measles-virus vaccine with human immune globulin, J. amer. med. Ass., 180, 69.
- Ždanov, V. M. and L. I. Fadeeva (1959): Problem of development of measles virus, Vopr. Virusol., 5, 557.

R. SUBOTIĆ

HISTOLOŠKE PROMJENE
UNUTARNJEGA UHA
POSILIJE VIRUSNIH UPALA

UVOD

Etiološki faktori gluhoće i naglušosti znatno su se izmijenili zadnjih dvadesetak godina. Dok su ranije infektivne bolesti i bakterijalne upale ili samostalno ili kao komplikacija infektivnih bolesti bile daleko najčešći uzroci, posljednjih godina se kao uzroci gluhoće i naglušosti, naročito kod djece, sve češće javljaju razni oblici porođajnih trauma, toksični agensi i, konačno, virusne infekcije. Uzroci toj promjeni su raznovrsni i međusobno nepovezani. Sve veći broj poroda koji se obavljaju pod stručnim nadzorom u rodilištima, sve bolja njega novorođenčadi, a naročito nedonoščadi, sve uspješnija terapija komplikacija nastalih u toku poroda i neposredno poslije njega (porođajne traume, asfiksija, Rh-faktor) uzrokom su da velik broj novorođenčadi koja su ranije umirala ostaje na životu. Ipak se sve posljedice navedenih stanja ne mogu uvijek izbjeći, a jedna od češćih jest teška naglušost ili gluhoća. Uvođenje antibiotika učinilo je labirintarne i endokranijalne komplikacije otitisa i gnojne meningitise rjeđima i znatno im ublažilo tok bolesti te smanjilo učestalost naknadnih oštećenja. Tako se uz ostalo i broj gluhoća i teških naglušosti znatno smanjio. S druge strane, toksično djelovanje pojedinih antibiotika, od kojih se neki, kao streptomycin, daju velikom broju pacijenata, unijelo je sasvim novi faktor među uzročnike teških naglušosti i gluhoća. Ranije poznata oštećenja sluha lijekovima bila su uglavnom blaga (kinin) ili privremena (salicilati). Saznanje da su mnoge bolesti do tada nepoznate etiologije zapravo uzrokovane virusima i da neke od njih mogu biti razlogom gubitka sluha (parotitis, morbili, rubeola, razni neurotropni virusi) uzrokom je da je ovaj etiološki faktor uočavan sve češće. Kolika je promjena nastala u tom pogledu, najbolje se može sagledati ako se usporede pojedine starije statistike o etiološkim faktorima gluhoće i naglušosti s nekim iz posljednjih 15 godina (1, 2, 3, 4, 5).

Naša je namjera da u ovoj radnji iznesemo promjene u unutarnjem uhu koje nastaju nakon virusnih infekcija. Te promjene je posljednjih godina sistematski opisivao Lindsay sa suradnicima, (6, 7) ali je sve do danas broj histološki obrađenih slučajeva malen. I prije Lindsayevih radova opisane su promjene u unutarnjem uhu nakon ospica, ali je detaljna histološka analiza pokazala da se radilo o promjenama koje su očito bile posljedica bakterijalne superinfekcije (8, 9). Nije bez interesa napomenuti da je već Steurer prikazao histološke preparate kohleje sa svim karakteristikama posljedica virusnog labirintitisa, tumačeći ih kao degenerativne promjene u unutarnjem uhu (10). Wittmaack je posve teoretski ukazao na mogućnost da bi ovakve promjene zapravo bilo logično očekivati nakon nekih oboljenja labirinta, kao na primjer parotitisa (11).

Od prve publikacije Lindsaya (1954), koji je detaljno analizirao histološke promjene u unutarnjem uhu nakon ospica (6), parotitisa (7) i rubeole (12) i utvrdio osnovne karakteristike histoloških promjena u unutarnjem uhu, niz slučajeva publicirali su Hemenway i Bergström (13). Schuknecht sa suradnicima (14), a nešto kasnije i Lindsay sa suradnicima (15) upozorili su da kod nekih slučajeva iznenadne gluhoće ili naglušnosti (sudden deafness) možemo histološki naći iste promjene kao i nakon virusnih labirintitisa, pa su i ovi slučajevi, barem dijelom, virusne etiologije.

MATERIJAL I METODE

Za procjenu histopatoloških promjena u unutarnjem uhu nakon virusnih infekcija služili smo se u ovom radu materijalom iz otopatološke zbirke Massachusetts Eye and Ear Infirmary i Harvardskog medicinskog fakulteta, koji nam je predstojnik toga laboratorija prof. dr H. F. Schuknecht susretljivo stavio na raspolaganje. Materijal se sastoji od 9 temporalnih kostiju pacijenata koji su anamnestički oglušili nakon jedne virusne infekcije i od 5 temporalnih kostiju pacijenata koji su iznenada izgubili sluh bez vidljivog uzroka, ali najčešće ili u toku neke banalne respiratorne infekcije ili nakon nje. Sve temporalne kosti rezane su u nizu u vodoravnoj ravnini odozgo prema dolje u rezovima debljine 20 mikrona. Za analizu smo imali na raspolaganju svaki deseti rez, koji je bio obojen haemalaun-cosinom. U svakom slučaju učinjena je grafička rekonstrukcija kohleje po Schuknechtovoj modifikaciji (16) Guildove metode (17) s grafičkim prikazom gubitka osjetnih stanica, procjenom gubitka ganglijskih stanica u spiralnom gangliju i atrofičnih dijelova starije vaskularis.

NALAZI

Promatrajući sve ove preparate u cjelini, možemo uočiti nekoliko zajedničkih karakteristika: sve patološke promjene u prvom redu ograničene su na osjetne stanice Cortijeva organa, a zatim i na ostale strukture unutar duktusa kohlearisa i na spiralni ganglij. Vestibularni dio labirinta

pogođen je u znatno manjoj mjeri i promjene se gotovo isključivo vide samo na osjetnim stanicama. Nigdje se u prostorima unutarnjeg uha, pa ni kod najtežih oštećenja, ne mogu naći nakupine leukocita, a pogotovo nema stvaranja veziva ili nove kosti, kao što je to slučaj nakon labirintitisa, koji su posljedica bakterijalne infekcije. Perilimfatični prostor histološki ne pokazuje nikakvih promjena. Time nam postaje znatno otežano određivanje puta infekcije na temelju morfoloških promjena. Dok se kod bakterijalnih labirintitisa s obzirom na opisane promjene put infekcije može u akutnoj i subakutnoj fazi rekonstruirati na temelju nalaza infiltrata leukocita, a u kroničnoj fazi na temelju formiranja veziva, svi ti elementi nedostaju nakon virusnih infekcija. O putu infekcije možemo zaključivati tek na temelju razlike u promjenama koje je iza sebe neka virusna infekcija ostavila u pojedinim strukturama unutarnjeg uha. No prije nego što detaljnije razmotrimo ovo pitanje, smatramo upitnim najprije prikazati histološke promjene koje virusni infekti uzrokuju na pojedinim strukturama unutarnjeg uha. Pri tome ćemo opisati samo one strukture koje su bile promijenjene, dok su one koje se ne spominju bile bez patoloških promjena.

1. *Cortijev organ*: stanice Cortijeva organa bile su pogođene u svim slučajevima koje smo imali prilike analizirati. Intenzitet tih promjena bio je različit i varirao je od oštećenja samo vanjskih osjetnih stanica u bazalnim dijelovima kohleje pa do potpunog nestanka svih osjetnih i potpornih stanica na bazilarnoj membrani uzduž čitave pužnice (sl. 1, 4, 10, 11). Uspoređujući pojedine preparate, donekle možemo rekonstruirati redoslijed oštećenja, koji bi se razvijao po slijedećoj shemi: najprije su oštećene vanjske osjetne stanice u bazalnom zavoju, zatim vanjske osjetne stanice u ostalim zavojima kohleje i unutarnje osjetne stanice, pa unutarnji i vanjski stupovi i konačno ostale potporne stanice. Ni u jednom slučaju nismo našli oštećenje potpornih stanica bez oštećenja osjetnih stanica. U svakom slučaju su degenerativne promjene u osjetnim stanicama bile po svome intenzitetu znatno jače od oštećenja potpornih elemenata.

2. *Membrana tektorija*: histološke promjene na tektorijalnoj membrani ne javljaju se uvijek i nisu u nikakvom skladu ili ovisnosti s promjenama na Cortijevu organu. Dok, s jedne strane, i kod potpunog uništenja svih elemenata Cortijeva organa možemo vidjeti histološki posve normalnu tektorijalnu membranu, dotle, s druge strane, i kod relativno dosta sačuvanih elemenata Cortijeva organa tektorijalna membrana pokazuje izrazite patološke promjene. Lindsay je bio prvi koji je smatrao da je nalaz u klupko smotane tektorijalne membrane položene na limbusu i pokrivenne jednim slojem stanica tipično oštećenje te strukture za virusni labirintitis. Mi smo ovaj oblik oštećenja našli svega u jednom slučaju (sl. 3). Prema našem iskustvu, međutim, smatramo da je ovaj nalaz samo jedan od morfoloških oblika oštećenja tektorijalne mebrane, koji nije specifičan za virusno oštećenje tektorijalne membrane, jer smo ga mogli zapaziti i kod jednog slučaja hidropsa labirinta u području perforacije

Reissnerove membrane. Mnogo češće smo naišli (u 4 slučaja) na atrofiju membrane. No ovaj oblik promjena ne može se sa sigurnošću uvijek smatrati intravitalnom promjenom, jer tu pojavu mnogo češće nalazimo kao dio autolitičkih promjena membranoznih struktura labirinta. Ali ne možemo zanijekati činjenicu da se atrofija membrane javljala i u onim slučajevima u kojima drugih autolitičkih promjena u ostalim strukturama labirinta nismo mogli naći, pa je u tim slučajevima moramo smatrati posljedicom intravitalnih oštećenja. To tim više što smo ovakve promjene, koje smo ocijenili kao intravitalne, našli uglavnom u onim slučajevima u kojima je virusni labirintitis imao kao posljedicu gluhoću (sl. 6).

3. *Reissnerova membrana*: običnom mikroskopijom nismo uočiti mogli nikakve promjene u sastavu te membrane. Tako je već Nager (8) upozorio na kolaps membrane u slučaju virusnog labirintisa poslije rubeole. Taj nalaz bio je kasnije tumačen kao rezultat atrofičnih promjena u striji vaskularis i smanjene produkcije endolimfe. Međutim, i ovdje vrijedi isto ono što smo kazali za tektorijalnu membranu. Kolaps membrane često je posljedica autolitičnih promjena na membranoznom labirintu temporalne kosti. Da on po svoj prilici nije uvijek posljedica smanjene produkcije endolimfe, dokazuje i činjenica da je taj nalaz nađen i u onim slučajevima gdje je strija vaskularis bila posve normalna (sl. 9). Naprotiv, u jednom slučaju gdje su ne samo strija nego i spiralni ligament bili atrofični, membrana je bila izbočena kao kod endolimfatičnog hidropsa (sl. 3). Prema tome smatramo da se iz nalaza strije ne može zaključivati o količini endolimfe, a još se manje može taj nalaz uzeti kao indirektni dokaz da je položaj membrane u smislu kolapsa intravitalna pojava.

Strija vaskularis: u većini naših slučajeva strija vaskularis bila je atrofična, bilo samo u bazalnom zavoju pužnice, bilo gotovo jednoliko u svim zavojima, s tek tu i tamo malenim ostacima sačuvanog tkiva strije (sl. 10). Ipak moramo naglasiti da je u 3 slučaja strija bila nepromijenjena, ili su promjene na striji, naročito kada se usporede s promjenama na ostalim strukturama duktusa kohlearisa, bile neznatne. Ni u jednom slučaju nismo mogli vidjeti promjene na striji koje je opisao Lindsay (6, 7) pa ni u slučaju djeteta koje je umrlo u toku meningoencefalitisa uzrokovanog virusom ospica. U tom slučaju strija je bila normalna (sl. 9). O značenju histoloških nalaza na striji vaskularis s obzirom na put infekcije govorit ćemo pobliže kasnije.

Spiralni ganglij: kao i Coratijev organ, tako i spiralni ganglij pokazuje u svim slučajevima veće ili manje promjene. Te promjene su različitog stepena, od potpunog nestanka svih ganglijskih stanica pa do izrazitog smanjenja broja stanica samo u području bazalnog zavoja pužnice. U nekim se slučajevima degenerativne promjene u spiralnom gangliju nalaze samo u onom području u kojemu nalazimo i degenerativne promjene ne samo u osjetnim nego i u potpornim stanicama Cortijeva organa. Taj nalaz je najčešći i jasno je bio izražen u 9 od 14 naših slučajeva. Ovaj nalaz vodi nas logično zaključku da se u svim tim slučajevima radi o sekun-

darnim degenerativnim promjenama, a ne o primarnom oštećenju ganglijskih stanica virusom (sl. 1), tim više što je u onim dijelovima pužnice u kojima je Cortijev organ potpuno uništen oštećenje ganglijskih stanica znatno manje izraženo, tako da iznosi svega 30–50% stanica. Međutim, u dva od naših slučajeva upada u oči gotovo potpuni gubitak stanica u spiralnom gangliju, tako da u jednom od njih nalazimo svega tek tu i tamo po koju sačuvanu satnicu (sl. 4, 9). U drugom slučaju staničnih elemenata u području spiralnog ganglija uopće nema i prostori unutar modiolusa ispunjeni su samo eferentnim nitima slušnog živca. Osim toga se u ovom drugom slučaju na bazilarnoj membrani jasno mogu vidjeti ostaci Cortijeva organa, iako je finija diferencijacija stanica zbog uznapredovalih autolitičkih promjena nemoguća (sl. 9). Ovako izražena oštećenja ganglijskih stanica nikada ne dolaze kod ascendentne degeneracije, a naročito ne u onim slučajevima u kojima je Cortijev organ makar djelomično sačuvan. Stoga nas ovaj nalaz navodi na pomisao da su u ovim slučajevima oštećenja ganglijskih stanica primarna, a ne sekundarna pojava. Pri tome mislimo da je do propadanja ganglijskih stanica došlo uslijed direktnog djelovanja virusa i da se u ovim slučajevima ne radi o posljedicama propadanja osjetnih i potpornih stanica Cortijeva organa.

Spiralni ligament: na našim preparatima bio je spiralni ligament normalan u svim slučajevima osim u jednom, gdje se mogla vidjeti izrazita atrofija te strukture. Značenje te promjene nije nam jasno, tim više što se u tom istom slučaju našla i atrofija strije vaskularis uz endolimfatični hidrops.

Osjetne stanice vestibularnog dijela unutarnjeg uha: ovi osjetni elementi pogođeni su u znatno manjoj mjeri od onih u pužnici. U većini preparata nismo mogli uopće zapaziti neke promjene u tim strukturama, pa ni onda kad je Cortijev organ bio teško oštećen. Od svih osjetnih elemenata vestibularnog dijela labirinta izolirano je pogođena samo makula sakuli (u 2 slučaja) (sl. 12). Do oštećenja osjetnih elemenata u makuli utrikuli dolazi samo onda kad su pogođene i sve ostale osjetne stanice. To isto vrijedi i za osjetne stanice na kristama polukružnih kanala. Ovakvo potpuno oštećenje osjetnih stanica vestibularnog dijela labirinta našli smo samo u jednom slučaju (sl. 7, 8). Ove nalaze nije lako objasniti na temelju podataka kojima raspolažemo. Sigurno je da nije razlog vrsta virusa, jer isti virus – virus ospica – uzrokuje jedanput oštećenje samo Cortijeva organa u bazalnom zavoju pužnice, drugi put oštećenje svih osjetnih elemenata unutarnjeg uha, kao i spiralnog ganglija, a treći put prvenstveno oštećenje spiralnog ganglija. I opet nam se nameće pomisao nisu li u pojedinim slučajevima značajni genetski faktori, naročito u onima u kojima je uz kohleu pogođen izolirano sakulus.

Ganglion Scarpa: nije, na žalost, bio sačuvan u većini naših preparata, pa se analiza nije mogla izvršiti. U onim slučajevima gdje smo ga mogli analizirati bio je uglavnom normalan. U jednom slučaju postojala je degeneracija živčanih vlakana gornje grane vestibularnoga živca, ali, na žalost, sam ganglij nije bio pristupačan analizi.

K o m e n t a r

Posljedice virusne infekcije na labirintu očituju se u prvom redu degenerativnim promjenama na osjetnim, a u manjoj mjeri i na potpornim stanicama Cortijeva organa. Vrlo često nalazimo promjene i u striji vaskularis, u tolikoj mjeri da histološki možemo razabrati svega jedan sloj stanicarisa u području strije u kojem se obično mikroskopskom tehnikom kapilare ne mogu vidjeti. Na te promjene strije upozorio je prvi Lindsay (6), koji je smatrao da su kapilare strije vaskularis ulazna vrata za prodor virusa u labirint. Prema njegovu mišljenju svaki virusni labirintitis bio bi posljedica opće viremije, a prodor virusa u unutarnje uho odigrao bi se preko krvnog optoka strije. Time je on objašnjavao nalaze nakupina epitelioidnih stanica u striji u subakutnim slučajevima virusnih upala, a potpunu atrofiju strije u slučajevima konačnih stanja nakon preboljele virusne upale srednjeg uha. Sve te promjene bile bi prema tome posljedica oštećenja tkiva strije uslijed djelovanja virusa. Ujedno je u tom načinu širenja infekcije tražio objašnjenje za promjene u unutarnjem uhu, koje je u svojim slučajevima nalazio samo u strukturama unutar duktusa kohlearisa. Promjene na spiralnom gangliju smatrao je samo posljedicom oštećenja osjetnih i potpornih stanica Cortijeva organa. Ovaj oblik promjena nazvao je i posebnim imenom: endolimfatičnim labirintitisom, i smatrao taj oblik promjena u labirintu tipičnim za virusnu infekciju.

Iako se u ovu shemu uklapa više ili manje i većina naših slučajeva, ipak se u 2 slučaja nalazi znatno razlikuju. U oba slučaja strija vaskularis je bila normalna, a osim oštećenja Cortijeva organa našli smo i gotovo potpuni nedostatak ganglijskih stanica u području spiralnog ganglija. U jednom slučaju bilo je oštećenje spiralnog ganglija tako teško da su se u modiolusu mogle vidjeti samo eferentne niti slušnog živca. Da se u ovom slučaju nije radilo o sekundarnoj degeneraciji ganglijskih stanica, govori nam nalaz djelomično sačuvanog Cortijeva organa u svim zavojima kohleje. Stoga smatramo da u ovim slučajevima do invazija virusa u labirint nije došlo preko strije vaskularis, nego po svoj prilici preko unutarnjeg slušnog hodnika. Taj svoj zaključak temeljimo na činjenici da je starija vaskularis bila normalna, a da su se najteže promjene našle u spiralnom gangliju, strukturi koja je unutarnjem slušnom hodniku najbliža.

Drugo pitanje koje se nameće jest otkuda tolika raznovrsnost u težini oštećenja struktura unutarnjega uha. Dok su u jednom slučaju pogođene samo vanjske osjetne stanice u pužnici, dotle u drugom slučaju možemo promjene vidjeti ne samo u raznim strukturama pužnice nego i u osjetnim stanicama makula i polukružnih kanala. Kako smo već naveli, vrsta virusa nije odlučujući faktor, jer smo kod labirintitisa uzrokovanog virusom ospica mogli vidjeti najrazličitije stupnjeve oštećenja. Mislimo da u tom smislu osim općih bioloških faktora koji su prisutni kod svake infekcije igraju određenu ulogu i genetski faktori. Ovaj zaključak temeljimo na dva slučaja kod kojih su pod djelovanjem virusa stradale osjetne

stanice u pužnici i sakulusu. Degeneracija istih osjetnih stanica javlja se kod oblika prirodene nerazvijenosti labirinta koji je opisao Scheibe. To podudaranje nije prema našem mišljenju samo slučajna pojava dvaju morfološki identičnih oštećenja. Scheibeov tip degeneracije je samo izraz najtežih genetskih oštećenja, koja se kod blažih oblika ne moraju manifestirati ni morfološki ni funkcionalno. Tek još jedan stečeni, dodatni faktor, u našem slučaju virus, dovodi do propadanja prvenstveno onih osjetnih stanica unutar unutarnjeg uha koje su ionako biološki manje vrijedne (sl. 5). U prilog toj tezi možemo navesti još neke nalaze iz našeg materijala. U slučaju najtežeg oštećenja svih osjetnih stanica i kohlearnog i vestibularnog dijela labirinta nađen je nedostatak koštanog septuma između dva zavoja pužnice, tzv. skala komunis, što nije ništa drugo nego najblaži oblik prirodene nerazvijenosti labirinta po Mondinijevom tipu (sl. 6). Taj isti nalaz našao je u jednom od svojih slučajeva i Lindsay (12). Interesantno je napomenuti da su ovu tezu simultanog djelovanja genetskih i stečenih faktora pri nastajanju oštećenja struktura unutarnjeg uha već prije nekoliko godina iznijeli i drugi autori na temelju kliničkoga materijala (18, 19).

U diferencijalnoj dijagnozi nedostatak oblikovanja vezivnog tkiva u prostorima labirinta nakon virusnih infekata čini diferencijalnu dijagnozu prema promjenama nakon bakterijskih upala unutarnjeg uha relativno laganom. S druge strane, međutim, ta činjenica uzrokom je da su promjene nakon virusnih labirintitisa katkada na prvi pogled slične promjenama nakon toksičnih oštećenja unutarnjeg uha, nekih oblika prirodnih nerazvijenosti labirinta, akustičkoj traumi ili degenerativnim promjenama labirintarnih struktura. Ovdje se diferencijalna dijagnoza postavlja na temelju pažljive analize anamnestičkih podataka i histološke pretrage serijskih rezova temporalne kosti. Samo na temelju serijskih rezova možemo usporediti kvalitetne i kvantitetne razlike u oštećenju pojedinih struktura unutarnjeg uha. Tako možemo uočiti da nijedna od navedenih noksa, barem prema dosada poznatom histološkom materijalu, kod ljudi ne oštećuje u tolikoj mjeri i osjetne i potporne elemente unutarnjeg uha kao virus. S druge strane, strija vaskularis ostaje sačuvana kod toksičnih oštećenja, akustičkih trauma i kongenitalnih nerazvijenosti, a to isto vrijedi i za stanice u spiralnom gangliju. Određene poteškoće mogu činiti prezbiakustične promjene, naročito one kohleosakularnog tipa, pa i neki oblici primarne neuralne degeneracije (20). Ipak će nas u tim slučajevima dob pacijenta i razvoj naglušnosti navesti na pravi put.

SADRŽAJ I ZAKLJUČCI

1. Promjene u unutarnjem uhu nakon virusne infekcije na našem materijalu bile su ograničene na osjetne i potporne stanice Cortijeve organa, membranu tektoriju, striju vaskularis, spiralni ganglij i u manjoj mjeri na osjetne stanice vestibularnog dijela labirinta. Ne može se sa sigurno-

nošću utvrditi u kojoj su mjeri promjene položaja Reissnerove membrane posljedica intravitalnih promjena ili analize i fiksacije.

2. U perilimfatičnim prostorima nismo našli nikakvih vidljivih histoloških promjena. U subakutnim slučajevima nije bilo upalnih staničnih infiltrata, a nakon zalječenja nije ni u jednom slučaju došlo do stvaranja veziva ili nove kosti unutar labirintarnih prostora.

3. Ukoliko put infekcije labirinta virusima ide preko strije vaskularis, oštećenje unutarnjeg uha je ograničeno uglavnom na strukture unutar duktus kohlearisa i daje histološku sliku koju je opisao Lindsay pod imenom endolimfatičnog labirintitisa. Ako put infekcije ide preko unutarnjeg slušnog hodnika, najteže su oštećene ganglijske stanice u spiralnom gangliju, u manjoj mjeri strukture u endolimfatičnim prostorima, osim osjetnih stanica koje su redovito uništene, dok je starija vaskularis normalna.

4. Činjenica da oštećenje unutarnjeg uha nakon virusnih infekcija u pojedinim slučajevima pogađaju iste osjetne elemente kao i neki oblici prirodene nerazvijenosti unutarnjeg uha, kao i istovremena pojava naročito teških oštećenja unutarnjeg uha nakon virusnih infekcija s nekim oblicima prirodnih nerazvijenosti labirinta, upućuje na zaključak da su oštećenja nakon virusnih infekcija barem djelomično uvjetovana genetskim faktorima.

5. Diferencijalna dijagnoza prema ostalim oboljenjima unutarnjeg uha posatlja se tek na temelju serijskih rezova čitave temporalne kosti, jer se samo tako mogu odrediti kvantitativno i kvalitativno oštećenja pojedinih struktura. Pri tome treba uvijek uzeti u obzir detaljnu analizu kliničkih i anamnestičkih podataka.

*Otorinolaringološka klinika
Medicinskog fakulteta u Zagrebu
Predstojnik: Prof. dr. Branimir Gušić*

LEGENDE UZ SLIKU

M. E., 68 g. Oglušio u dobi od 8 mjeseci nakon respiratorne infekcije. Razvio se kasnije u tipičnog gluhošnjemog. Umro je od akutnog srčanog infarkta.

Patohistološki nalaz: Koštani dio labirinta je normalan. Cortijev organ nedostaje u donjoj polovici kohljeje, a u ostalom dijelu prisutni su samo potporni elementi. Ganglijske stanice u spiralnom gangliju prisutne su samo u apikalnom dijelu, s gotovo potpunim gubitkom u bazalnom. Strija vaskularis je atrofična u apikalnom zavojju. Tektorijalna membrana, Reissnerova membrana i spiralni ligament su normalni. Osjetni elementi vestibularnog dijela labirinta su bez promjene.

(slika 1)

P. R., 44 g. Ovaj pacijent bio je gluhi na lijevo uho od djetinjstva. Tačno vrijeme postanka i uzrok gluhoće nisu poznati. Umro je od pulmonalne embolije.

Patohistološki nalaz: Koštani dio labirinta je normalan. U membranoznom labirintu vidi se izrazit endolimfatični hidrops, koji zauzima duktus kohlearis, sakulus, utrikulus, kao i sva tri polukružna kanala. Cortijev organ je sveden na malu nakupinu stanica u kojoj se osjetni elementi ne mogu diferencirati. Tektorijalna membrana je smotana u klupko i pokrivena djelomično slojem stanica i smještena na gornjem rubu limbusa. Spiralni ligamenti kao i strija vaskularis su atrofični. Osjetni epitel vestibularnog dijela labirinta pokazuje gotovo potpuni gubitak osjetnih stanica na makuli sakuli uz posve normalni osjetni epitel na makuli utrikuli i kristama lateralnih polukružnih kanala. (slika 2, 3, 4)

P. A., 59 g. U trideset i devetoj godini života pacijentica je nenadano za vrijeme jedne prehlade izgubila sluh u desnom uhu. Nije imala vrtoglavice. Sluh se nije popravio i patila je od šuma u tom uhu sve do smrti. Audiogram tri tjedna prije smrti pokazao je perceptornu redukciju desno na razini od 40 do 70 db-a s pozitivnim rekrutiranjem. Umrle je od metastaza adenokarcinoma kolona.

Patohistološki nalaz: Koštani labirint je bez promjene. Cortijev organ pokazuje gotovo potpuni gubitak osjetnih stanica u prvih 5 mm bazalnog dijela kohljele i u prosjeku gubitak od 30% stanica sve do 20 mm, a u apikalnom dijelu gubitak osjetnih stanica bio je svega 10%. Tektorijalna membrana je skvrčena. Strija vaskularis većim je dijelom atrofična. Zid sakulusa je kolabiran i između njega i makule vidi se fibrilarno tkivo. Postoji gotovo potpuni gubitak osjetnih stanica u sakularnoj makuli, dok je sloj potpornih stanica normalan. Ostali dijelovi vestibularnog labirinta su normalni. (slika 5)

A. N., 57 g. Bolesnik je oglušio u dobi od 4 godine, nakon ospica. Audiometrija je učinjena u četrdesetoj godini i pokazala je obostranu gluhoću. Kalorički testovi su pokazali jaku hiporefleksiju. Umrlo je u 57-oj godini od tuberkuloznog meningitisa.

Patohistološki nalaz: Koštani labirint je bez promjene. Unutar membranoznog labirinta vidi se da Cortijev organ ili u potpunosti nedostaje, ili pokazuje teške degenerativne promjene. U spiralnom gangliju može se vidjeti samo pojedinačno po koja stanica. U vestibularnom dijelu labirinta postoji gubitak od oko 60% osjetnih stanica u kupulama polukružnih kanala kao i na makulama. Reissnerova membrana je kolabirana u bazalnim zavojima. Tektorijalna membrana je tanka i utisnuta na ostatak Cortijeve organa. Strija vaskularis je uglavnom normalna i postoje samo ograničeni areali atrofije u apikalnim zavojima. Koštana pregrada između srednjeg i apikalnog zavoja kohljele nedostaje (scala communis). (slika 6, 7, 8)

O. R., 8 g. Dijete je rođeno na vrijeme i razvijalo se normalno do dobi od 2 godine, kada je preboljelo encefalitis nepoznate etiologije. Nakon te bolesti razvoj govora bio je usporan, a sluh je bio smanjen. Audiometrija je pokazala prag sluha lijevo na razini od 40 do 65 db-a, a desno 70 do 80 db-a. Sa 6 godina smješteno je u Zavod za odgoj gluhe djece. Kontrolni audiogrami dali su iste rezultate. U osmoj godini preboljelo je ospice, nakon kojih se razvio tipični encefalitis i umrlo je 4 mjeseca poslije početka bolesti od obostrane pneumonije.

Patohistološki nalaz: Koštani labirint je uredan, dok u strukturama membranoznog labirinta vidimo dosta jake autolitičke promjene. Cortijev organ kao i osjetne stanice vestibularnog dijela labirinta su prisutni, ali detaljnija analiza nije moguća zbog autolitičkih promjena. Strija vaskularis je normalna, Reissnerova membrana je kolabirana, a tektorijalna membrana djelomično nedostaje ili je vrlo tanka. U spiralnom gangliju nema nijedne ganglijske stanice i nijednog sačuvanog neurona. Sve živčane niti koje se još mogu vidjeti pripadaju eferentnom sistemu. (slika 9)

H. B., 44 g. 11 mjeseci prije smrti pacijentica se jedno jutro probudila s nagluhosti lijevog uha i osjećajem nesigurnosti u hodu. Audiogram je pokazao lijevo gubitak sluha do 1000 Hz na nivou od 30 db s naglim padom u visokim frekvencijama. Iznad 4000 Hz sluh gasne. Na 2000 Hz pozitivni test rekrutiranja po Fowleru. Kalorički testovi su uredni. Sve do smrti od ulcerativnog kolitisa stanje sluha nije se mijenjalo.

Patohistološki nalaz: Koštani labirint je uredan. Cortijev organ je atrofičan u bazalnih 11 mm pužnice. Spiralni ganglij je bez promjena. Strija vaskularis je atrofična u srednjem i gornjem zavoju. Reissnerova membrana i membrana tektorija su bez promjena. Vestibularni dio labirinta je uredan. (slika 10)

S. I., 79 g. Oglušio nakon što je u petoj godini života prebolio ospice. Nije govorio, nego je komunicirao samo pisanjem, gestama ili čitanjem s usta. Umro je od srčanog infarkta.

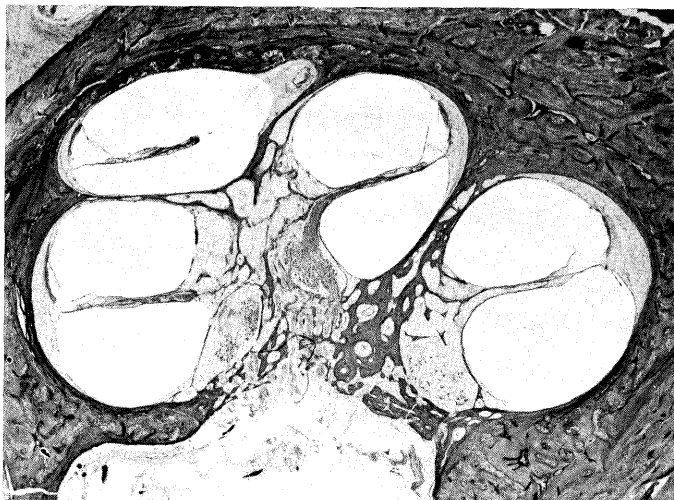
Patohistološki nalaz: Koštani labirint je bez osobitosti. Cortijev organ nedostaje u bazalnom zavoju kohleje, dok se u srednjem vide potporni elementi (osim stupova). U samom apeksu nalazi se i pokoja osjetna stanica. Strija vaskularis posve je atrofična, naročito u apikalnom i donjem zavoju. Membrana tektorija je u nekim dijelovima kohleje savijena u klupko i prebačena na limbus. U spiralnom gangliju izrazit je gubitak stanica u području bazalnog zavoja, dok u ostalim dijelovima gubitak iznosi samo 40%. Vestibularni osjetni elementi su uredni, osim neznatnog ispada osjetnih stanica u makuli sakuli.

(slika 11, 12)

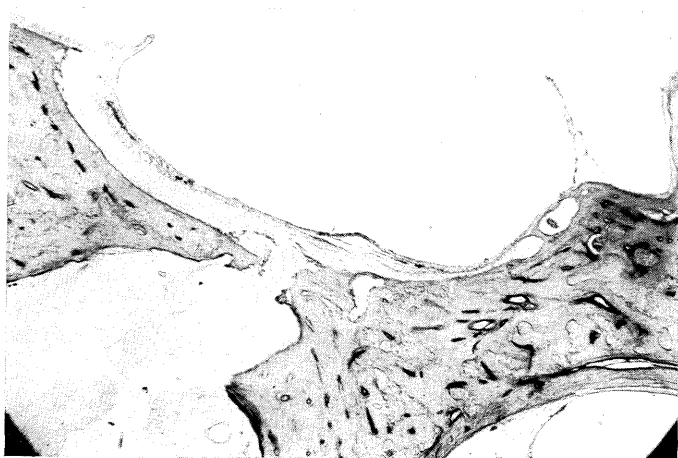
BIBLIOGRAFIJA

1. *Shambough, G. E., Hagens, E. W., Holderman, J. W., Watkins, R. W.*: Arch. Otolaryng., 7:424, 1928.
2. *Yersley, Mc L.*: Brit. J. Child. Dis. 1:177, 1934, ibid. 31:272, 1934, ibid. 32:21, 1935, ibid. 32:105, 1935, ibid. 32:196, 1935, ibid. 32:264, 1935.
3. *Bordley, J. E., Hardy, W. G.*: Acta Otolaryng., 40:72, 1951.
4. *Whetnall, E., Fry, D. B.*: The Deaf Child, London, Heinemann 1964.
5. *Maran, A. G. D.*, Jour. of Laryng., 80:495, 1966.
6. *Lindsay, J. R., Hemenway, W. G.*: Ann. Otolaryng., 63:754, 1954.
7. *Lindsay, J. R., Davey, P. R., Ward, P. H.*: Ann. Otolaryng., 69:918, 1960.
8. *Nager, F. R.*: Z. Ohrenheilk., 54:217, 1917.
9. *Denker, A.*: Die pathologische Anatomie der Taubstummheit. – Denker, A., Kahler, O.: Handbuch der H. N. O. Heilkunde VIII, Springer, Berlin 1927.
10. *Steuerer, O.*: Die atrophischen, dystrophischen und degenerativen Erkrankungen des inneren Ohres. – Denker, A., Kahler, O.: Handbuch der H. N. O. Heilkunde VIII, Springer, Berlin 1927.
11. *Wittmaack, K.*: Die entzündlichen Erkrankungsprozesse des Gehörorgans. – Henke, F., Lubarsch, O.: Handbuch der speziellen Anatomie und Histologie, Springer, Berlin 1926.
12. *Lindsay, J. R.*: Congenital Deafness of Inflammatory Origin. Mc Conell, F., Ward, P. H.: Deafness in Childhood, Vanderbilt Univ. Press, 1967.
13. *Hemenway, W. G., Bergstrom, L. W.*: The Pathology of Acquired Endolabyrinthitis, Ibidem.

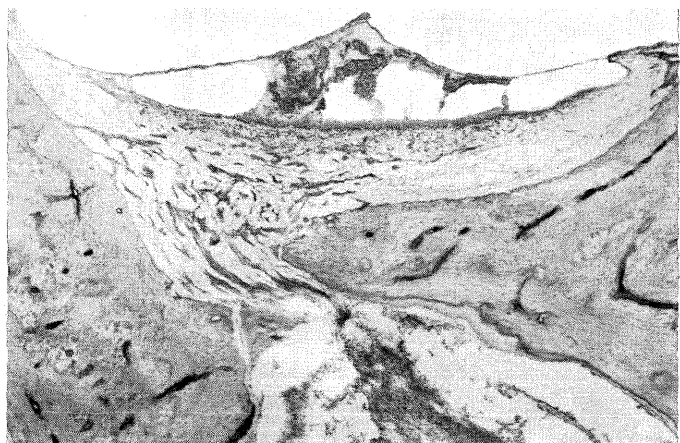
14. *Schucknecht, H. F., Benitez, J., Beekhuis, J., Igarashi, M., Singelton, G., Ruedi, L.:* Laryngoscope, 72:1142, 1962.
15. *Beal, D. D., Hemenway, W. G., Lindsay, J. R.:* Arch. Otolaryng., 82:591, 1967.
16. *Schucknecht, H. F.:* Arch. Otolaryng., 58:377, 1953.
17. *Guild, S. R.:* Anat. Rec., 22:141, 1921.
18. *Portman, M., David, J. L.:* Rev. Laryng., 78:703, 1957.
19. *Reynier, J. P. de:* Proceedings of the IV World Congress of the Deaf, Stockholm 1963.
20. *Schucknecht, H. F.:* Arch. Otolaryng., 80:369, 1964.



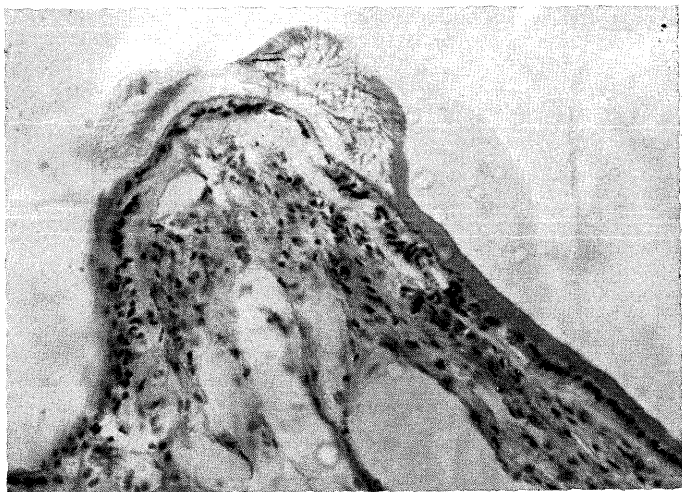
Slika 1 R. Subotić: Virusni labirintitis



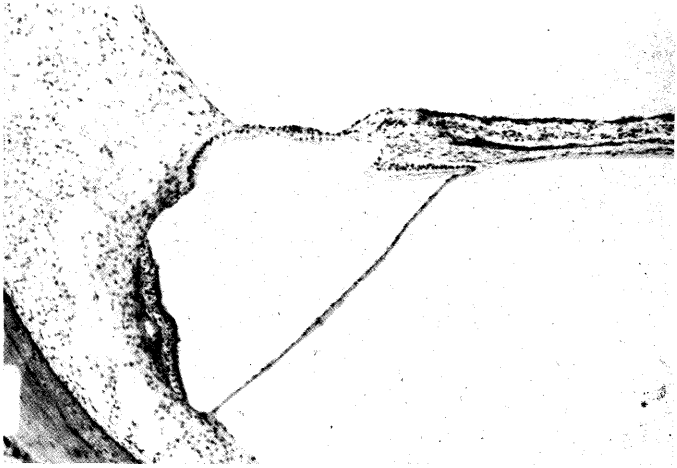
Slika 2 R. Subotić: Virusni labirintitis



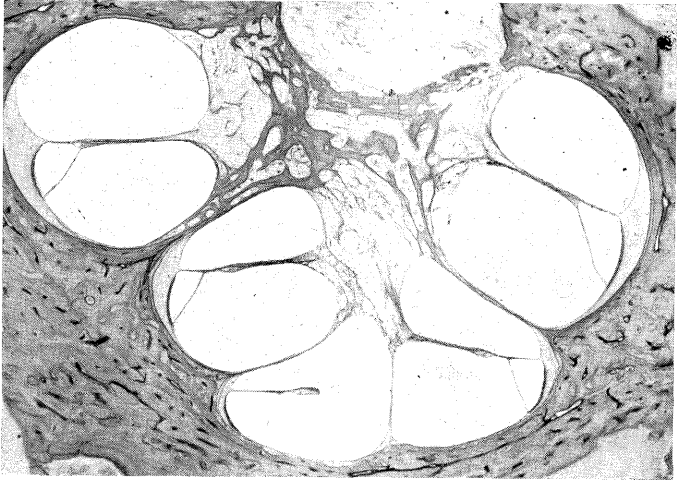
Slika 7 R. Subotić: Virusni labirintitis



Slika 8 R. Subotić: Virusni labirintitis



Slika 9 R. Subotić: Virusni labirintitis



V L A D I M I R B A U K

SPEKTROSKOPSKA ANALIZA
GLASA LARINGEKTOMIRANIH

U V O D

Problem govora nakon totalne laringektomije imade posljednjih godina veliko medicinsko i socijalno značenje. Bolesnika kojima je zbog karcinoma izvađen larinks svake je godine sve to više, a težina njihove invalidnosti je toliko obimna da imperativno nalaže određenu i efikasnu *suvremenu rehabilitaciju*. Čovjek bez larinksa fizički je u dobroj kondiciji, ali bez govora i mogućnosti komunikacije. On je toliko sputan da mu je s tim nedostatkom jedva moguće naći odgovarajuće mjesto u društvu, kako ne bi kao pasivan i neproduktivan član pao na teret svojoj zajednici.

Svrha komunikativne rehabilitacije kod laringektomiranog bolesnika jest da mu omogući naučiti producirati govorne elemente kojima će se moći sporazumijevati s okolinom.

Govor imade veliko značenje u životu čovjeka, jer svi njegovi psihički doživljaji dobivaju svoju ekspresiju i realizaciju jedino putem govora.

Nastojalo se s vremenom nekako supstituirati govor laringektomiranim bolesnicima, pa je već odavno pronađen i usvojen ezofagealni govor, kao nešto što najviše odgovara supstituciji i nešto što je kod čovjeka najfiziološkije na području komunikativnosti. Zbog toga se danas i postavlja kao – *conditio sine qua non* – da se nakon svake laringektomije bolesnik osposobi za buduću, u određenom smislu invalidizirani, normalniji život, uključujući kao neophodno – govornu rehabilitaciju ezofagealnim govorom. Pri tom pitanje sonoriteta produciranog glasa stoji na prvom mjestu.

Da bismo mogli bolje uočiti razlike između *normalnog* i *sonornog* glasa i svega onoga što se zbiva u spektroskopskom smislu onoga časa kada sonorni glas uslijed kojeg patološkog procesa izgubi sonornost, kao što je slučaj upravo kod laringektomiranog bolesnika, potrebno je baciti barem jedan kratak pogled na neke *filogenetske* faktore u evoluciji našeg fonatornog organa.

Ne ulazeći sada u analizu komunikativnih sistema kod različitih nižih životinja, koji se baziraju na produkciji različitih tonova i šumova najraznovrsnijeg postojanja, nas zanima evolucija fonatornog aparata koji se nadovezao na respiratornu funkciju, jer je jedino on omogućio produkciju svih onih elemenata koji sačinjavaju osnov ljudskog govora.

Upotrebljavajući rezervu zraka, mogu se kod ekspirirajućih oblikovati zvučni kompleksi po principu piska na svakom mjestu gdje se u danom momentu može stvoriti uzani prolaz za zrak pod pritiskom. Tako je poznato da se mnoge ptice za funkciju zvučnih kompleksa adekvatnih frekventnom rasponu ljudskog govora služe područjem bifurkacije traheje. Međutim, izgleda da je najadekvatnije mjesto u kojem se s obzirom na njegove anatomske mogućnosti mogu stvarati takvi zvučni kompleksi upravo larinks, koji se onda kod čovjeka u dugom evolutivnom nizu i razvija kao osnovni fonatorni organ.

Na prve početke larinksa podsjeća nas poput rime glotidis suženi ulaz u primitivna pluća kod dipnoa, vrste riba koje su se zbog čestog isušivanja rijeka u kojima žive prilagođivale pored škružnog disanja i na disanje iz atmosfere. Već kod najprimitivnijih među njima, a to su dipnoe iz roda *Ceratodus*, koje danas nastavaju još samo dvije male rječice u istočnoj Australiji, javlja se kod ekspiracije šum sličan roktanju, koji očito nastaje prolazanjem zraka kroz rimu što je čini sfinkter na mjestu prelaza u ždrijelo. Kod drugog roda ovih dipnoa, kod *Lepidosien paradoxus*, koji živi oko Amazone, pojavljuje se već u predjelu otvora zračnog puta u ždrijelo i zasebna grupa mišića dilatatora i konstriktora, te na taj način aktivno zatvaraju i otvaraju taj sfinkter.

Budući da se radi o ribama koje su veoma stari stanovnici naše zemlje (one se javljaju već u devonu, po starosti trećem periodu povijesti naše zemlje) očigledno je da je tendencija za produkcijom zvučnih elemenata unutar respiratornog sistema toliko stara kao što je staro i disanje živih bića.

Prvi počeci stvaranja osnova za jedan pravi larinks izgleda da se javljaju kod *Axolotla*. Kod njega je *Negus* mogao utvrditi osnove hrskavica s obiju strana otvora, koje se kasnije spajaju u svom kaudalnom dijelu i tako čine primarnu osnovu skeleta larinksa. Kod viših reptila i ptica dobro se raspoznavaju svi detalji i ariteonidne i tiroidne hrskavice.

Sve nam to dokazuje da je priroda u toku evolucije kod životinja koje žive u atmosferi upravo larinks preoblikovala kao najpodesniji i najekonomičniji organ za produkciju tonskih elemenata. No put od oblikovanja takvog organa od razvitka govora ostao je još uvijek veoma dug.

Ptice, premda imadu larinks s dobro formiranim hrskavičnim skeletom, kao i dobro formiranom rimom glotidis, ipak grkljan upotrebljavaju samo i isključivo za respiraciju. Sve ono što ptica producira u komunikativne svrhe ne stvara se u larinksu, nego duboko dolje u respiratornom traktu, i to na bifurkaciji traheje, gdje se stvara više ili manje nabora, koji u ritmu ekspiracije flotiraju.

Iz niza takvih nabora stvara se ono što je poznato u zoologiji kao zaseban organ nazvan *sirinx*, odnosno siringa. Zanimljivo je, i treba naro-

čito naglasiti, kako je moguće neke ptice, npr. papigu, češljugara i čvor-ka, tako izdresirati da mogu sa savršenom inteligibilnošću producirati pojedine riječi, pa i kratku rečenicu. Iako je mehanizam nastajanja ptičjeg cvrkuta sasvim drugačiji i treba ga svrstati u akustičku grupu sistema frule s piskom, ipak je velika naučna šteta što do sada nije uspjelo provesti spektralnu analizu nijedne riječi reproducirane od gore spomenutih ptica. To je šteta utoliko veća jer je danas, u vrijeme brzog tempa i ritma suvremenog modernog života, nestalo atraktivnosti gajenja takvih ptica, pa prema tome i njihove dresure.

Vrlo je zanimljivo spomenuti da kod mnogih vrsta vertebrata larinks poprima kupolasti oblik, pa se upravo samo tom mehaničkom preformacijom sprečava ulaz tekućine u pluća bez sudjelovanja mišićne energije.

Larinks sisavaca ne razlikuje se bitno od onog kod viših reptila i ptica, jer postoje i kod jednih i kod drugih svi potrebni elementi za stvaranje skeleta larinksa.

Na kraju, poznata je činjenica da se u evoluciji larinksa najmanje nalazi na najvišem stupnju. Njegov je larinks po svojoj anatomskoj strukturi potpuno identičan s larinksom čovjeka.

Promatrajući filogenezu razvoja larinksa, a specijalno evoluciju govora, dolazi se do ovih zaključaka: govor je, doduše, kao sredstvo društvenog komuniciranja razvijen samo kod homo sapiensa. Međutim, činjenica je da mnogi sisavci produciraju larinksom zvučne komplekse koji bi svojim frekventnim rasponom mogli odgovarati donjem dijelu govornog registra čovjeka. S druge strane, pijev ptica, kako je već naprijed spomenuto, dokazuje nam da za formaciju zvučnih kompleksa, po frekventnom rasponu adekvatnih ljudskom govoru, uopće nije potreban larinks i da običan princip piska taj larinks kod dresiranih ptica savršeno nadomješta.

Ezofagealni govor svojim relativno fiksiranim anatomsko-funkcionalnim strukturacijama pokazuje da je za formiranje govornih elemenata, uz odgovarajući kvantum potrebnog rezervnog zraka za eksplozivne senzacije, najvažnija centralno izazvana serija sekvenca impulsa.

U prilog tome govori činjenica da je kod gluhonijemog laringektomiranog čovjeka, koji nije naučio govoriti, nemoguće dobiti i najjednostavnije govorne elemente ezofagealnom tehnikom.

Iz toga slijedi zaključak da je u razvoju čovječjeg govora larinks s čitavom svojom anatomskom strukturom od sekundarne vrijednosti, a da je pri tome najvažnija evolucija određenih dijelova c. n. s., koja će u danom momentu moći upotrijebiti larinks za razvoj govora. Činjenica je da će i u najciviliziranijoj sredini novorođenče rođeno s normalnim sluhom i larinksom, ukoliko ga majka ne nauči govoriti, ostati potpuno nijemo.

Osim toga, tehnika trbuhozborstva najbolje pokazuje kako čovjek može da govori pomoću druge tehnike i druge funkcionalne adaptacije uz potpuno isključenje inače normalnog i očuvanog larinksa. Sve je to, naravno, moguće samo u slučaju očuvane centralne funkcije, koja u danom momentu iste sekvence i impulse istim ritmom šalje na drugo odredište.

LARINGEKTOMIJA I REHABILITACIJA

Prvu laringektomiju izveo je Watson iz Edinburga zbog stenozne larinksa uzrokovane sifilisom, a prvu laringektomiju zbog karcinoma izveo je 1873. g. Billroth. Od tada je ta operativna metoda probijala sebi put iako je bila prihvaćena s malo simpatija, upravo zbog velike mutilacije i izvanredno velikog mortaliteta. U našoj zemlji prvu laringektomiju izveo je Mašek 1919. g. Premda je mortalitet bio veoma visok, ipak je kod nas u Zagrebu do 1926. g. izvedeno oko 40 laringektomija.

Iako je laringektomija izrazito hendikepirano mutilirajući zahvat, koji čovjeka teško opterećuje nizom psihičkih negativnih kompleksa, ipak ona danas suvereno osvaja teren i u medicinskom i u sociološkom pogledu s razloga što medicinski jedino laringektomija može kod karcinoma grkljana pružiti bolesniku relativno fundiranu mogućnost daljeg života kroz dulji vremenski period, a s druge strane danas su reedukativne mogućnosti laringektomiranog bolesnika dovoljne da mu ponovno omoguće komunikativnu sposobnost.

Govorna rehabilitacija počela je da se razvija mnogo sporije i u mnogo skromnijem okviru od laringektomije. Prvi je o tom problemu pisao Gutzman (1908. g.). Već dvije godine kasnije je Godstein prikazao prvu uspješnu govornu reedukaciju ezofagealnim govorom kod laringektomiranog bolesnika. Nekako uporedo s tim Gussenbauer, Billrothov asistent, konstruirao je prvi umjetni larinks. Od tada je započela era govorne rehabilitacije kao i konstrukcije umjetnih larinksa. Rezultati dobiveni u rehabilitaciji umjetnim larinksom nisu zadovoljavali, pa je, prema tome, gotovo jedino mjesto u govornoj rehabilitaciji pripalo ezofagealnom govoru.

Formiranje ezofagealnog glasa i govora omogućuje nam gotovo kompletnu, a u svakom slučaju za sada još uvijek najuspjeliju govornu rehabilitaciju. Pri usvajanju ezofagealnog govora od osnovne su važnosti dva problema. Prvo, treba uspostaviti novi zračni rezervoar, a drugo, započeti formiranje pseudoglotide. Pokazalo se kao veoma korisno započeti govornu rehabilitaciju prije same laringektomije. Bolesnik mora naučiti prije svega fenomen gutanja zraka i njegovo magaziniranje u donjim dijelovima ezofagusa. Kao slijedeći akt nadovezuje se sama eruktacija zraka, to jest njegovo izbacivanje iz jednjaka uz stanoviti pritisak. Na taj način dobiva se relativno dobra fiziološka zamjena za raniju plućnu rezervu zraka kod govora. U drugoj etapi rehabilitacije, do koje će doći nakon što se smire postoperativni traumatizmi na vratu, s jedne strane, i težak mutilirajući šok, s druge strane, formira se pseudoglotida. Pomoću uvjetnih refleksa nastojimo aktivirati gornje ušće jednjaka i njegovu muskuloznu bazu da preuzme funkciju ranije glotide. Budući da je usna šupljina kao artikulaciona baza potpuno očuvana, to nam nije potrebno formirati novu bazu za stvaranje konsonanta.

Ezofagealni govor je jedina fiziološka supstitucija za govor i on je općenito relativno dobro razumljiv. To je metoda koja bi se danas mo-

rala primjenjivati na svim ORL odjelima gdje se vrše rutinske laringektomije, a postoje stručno-tehničke mogućnosti za rehabilitaciju takvih bolesnika.

Određeni broj bolesnika je, međutim, u stanju da spontano usvoji ezofagealni govor. Istina, njihov postotak je relativno malen, ali je ipak činjenica da ga usvoje spontano, bez sistematske govorne reedukacije, i da je taj govor također relativno razumljiv.

Inače rehabilitacioni postupak u pravilu traje 3-4 mjeseca, no negdje mnogo kraće, a negdje i nešto dulje. Rezultati rehabilitacionog postupka kod laringektomiranih bolesnika mogli bi se podijeliti u nekoliko grupa. U prvu grupu dolaze bolesnici kod kojih je ezofagealni govor toliko dobar da imaju puni socijalni kontakt. Glas im je mezzoforte intenziteta, a eruktacija toliko usklađena da mogu oblikovati bez poteškoća kratke rečenice s dovoljno modulacione sposobnosti. U drugu grupu dolaze bolesnici čiji je ezofagealni govor doduše dobar i zadovoljava nas, ali se uz taj govor javlja još i određeni šum iz traheostome. Zbog toga će i razumljivost kod tih bolesnika biti nešto manja. U treću grupu spadaju bolesnici koji su doduše svladali tehniku ezofagealnog govora u potpunosti, ali zbog neracionalnog i neusklađenog eruktiranja sonornost izgovorene riječi je znatno manja, modulacija minimalna, pa je mogućnost formiranja cjelovite rečenice u velikoj mjeri sužena. Na kraju, u četvrtu grupu spadaju bolesnici kod kojih rehabilitacija pomoću ezofagealnog govora ne uspijeva, odnosno daje toliko slabe rezultate da bolesnik od nje praktično nema koristi. Glavni razlog tim neuspjesima treba tražiti ne toliko u nemogućnosti da ovlada tehnikom gutanja i eruktacijom, koliko u nemogućnosti da ga izdignemo iz njegove potpune negativnosti i pasivnosti.

U svakom slučaju činjenica je da je pomoću ezofagealnog govora moguća dobra govorna rehabilitacija i da je pacijent nakon završene govorne rehabilitacije u mogućnosti da komunicira sa svojom okolinom. Njegov je novoformirani govor, prema tome, sasvim razumljiv, što znači da sadrži elemente koji su bitni za inteligibilnost izgovorenih riječi.

Svrha je upravo ove radnje da obradi fizikalne elemente i kvalitete ezofagealnog govora. Na taj način ću pokušati objasniti što je ezofagealni govor u fizikalnom smislu, a osim toga ću nastojati odgovoriti i na do danas neriješeno pitanje o čemu ovisi inteligibilnost ezofagealnog govora. Zbog toga je trebalo izvršiti naučnu analizu tih elemenata, pa je tema ove radnje upravo analiza jednog od najbitnijih elemenata, a to je spektralni sastav ezofagealnog glasa i govora.

Tu je veoma važno spomenuti inteligibilnost izgovorene riječi općenito. Problem inteligibilnosti izgovorene riječi može se i mora promatrati kroz dva aspekta i sa dva različita stajališta. Jedno je frekventno-amplitudni sastav nizova informacija koje u sekvencama slijede u određenom vremenskom odsjeku. Drugo je obrada, tj. dekodiranje, odnosno u insuficijentnim i patološkim slučajevima dešifriranje tih sekvenca informacija u završnom apercipientnom postupku.

Očito je, prema tome, da se inteligibilnost izgovorene riječi ne može ocjenjivati, odnosno promatrati izolirano, bilo s jednog ili drugog stajališta, jer tek usklađeno i sinhrono odvijanje obaju procesa u određenom vremenskom intervalu daje poželjnu inteligibilnost.

Iza toga odmah slijedi zaključak da inteligibilnost ovisi o besprijekornoj, odnosno barem suficijentnoj funkciji i jednog i drugog faktora i da će u danom momentu izostati, odnosno oslabiti ili poremetiti se kad otpadne bilo jedan bilo drugi faktor.

Spektroskopska analiza. – Razvitak spektroskopske analize ovisio je o napretku mjernih instrumenata. Kako se razvijala elektronika, a s tim u vezi i sama konstrukcija tih aparata, tako se dolazilo do sve točnijih i detaljnijih podataka o spektralnom sastavu.

Od 1921. g. pa nadalje počeli su se pojavljivati elektronski analizatori koji su omogućavali dobivanje prvih grubih analiza, a daljim razvojem te su analize postajale sve preciznije. Poboľšavanjem tonskofrekventnih signala moguće je analiziranje vremenski sve kraćih signala uz sve veće gušenje nepropusnog područja filtra. Tek je sada moguća spektralna analiza signala od svega 5 milisekunda trajanja. Gušenje nepropusnog filtra povećava se od 20 Db do 45 Db, a propusno područje se sve više sužava, tako da se umjesto oktavnog filtra upotrebljavaju terčni filtri i drugi s još užim propusnim područjem. Na taj način dobiva se sve preciznija spektralna analiza kraćih tonkih signala.

Godine 1928. Fletcher objavljuje svoje prve rezultate spektroskopskih analiza glasa. On obrađuje spektralni sastav svakog pojedinog glasa, te njegovu razumljivost dovodi u vezu sa širinom njegova frekventijskog područja. On utvrđuje da je za minimalnu razumljivost govora potrebno frekventijsko područje od 300 do 3000 Hz, što se primjenjuje upravo u telekomunikaciji. Proširivanjem tog frekventijskog područja dobiva se sve veća vjernost glasa. Da glas bude potpuno vjerno prenesen, potrebno je frekventijsko područje od 60 do 10.000 Hz.

Spektralna analiza u dvodimenzionalnom prikazivanju pokazuje samo maksimalne amplitude, a ne prikazuje njihovo trajanje i promjenu varijacija intenziteta u vremenu. Za takav način prikazivanja potreban je trodimenzionalni sistem u kojem postoji osim osi frekvencije i intenziteta još i os vremena.

Budući da je u literaturi uglavnom obrađen dvodimenzionalni sistem, a za glasove hrvatskosrpskog jezika postoji jedino takav način spektralne analize, u ovoj radnji je sav materijal obrađen upravo po tom sistemu. Jedino će nam tako biti moguća komparacija sa do sada utvrđenim spektroskopskim nalazima nekih govornih elemenata u području dvodimenzionalnog sistema, pomoću krivulja frekvencije i osi intenziteta.

Kod analize ezofagealnog glasa imat ćemo u akustičnom smislu posve nove senzacije. Strukturu normalnog glasa i govora sačinjavaju vokali i konzonanti. Vokale dobivamo na taj način da glasiljke titrajući stvaraju temeljni ton, na koji se nadovezuju nuztonovi u višim dijelovima fonatornog perifernog organa. Konzonanti, međutim, uopće ne nastaju

u grkljanu, nego na određenim mjestima usta i ždrijela. Zrak izlazi prema tome potpuno slobodno kroz rimu glotidis, a šum nastaje uslijed trenja struje zraka na određenim zaprekama. Na taj način dobijamo šumove bez zvuka.

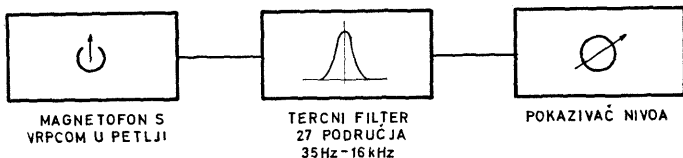
Pri stvaranju ezofagealnog glasa osnovna produkcija je eruktacija, na koju se nadovezuje funkcija pseudoglotide. U zajedničkom djelovanju to nam izgleda kao eksplozija jačeg ili slabijeg tipa, što je ovisno o snazi individualne eruktacije i o specifičnosti za pojedini izvedeni glas. Upravo ta diferentnost između normalnog i ezofagealnog glasa bila mi je osnovna misao vodilja pri izradi ove teme. Do danas ne postoji u literaturi obrađen problem frekvencijske amplitude analize ezofagealnog glasa i govora kao ni analiza njegove inteligibilnosti.

OPIS APARATURE I TEHNIKE RADA

Shema aparature za spektroskopsku analizu prikazana je na sl. br. 1.

Aparatura se sastoji od kalibriranog magnetofona s linearnim frekvenzijskim karakteristikama, koji ima na vrpici izvedenu beskonačnu traku, tako da se jedna snimka glasa može prema volji bezbroj puta reproducirati. Magnetofon upotrijebljen za te svrhe bio je studijske kvalitete, a po frekvenzijskoj karakteristici linearan s odstupanjem plus i minus 3 Db, unutar područja od 35 do 15.000 Hz.

SHEMA APARATURE



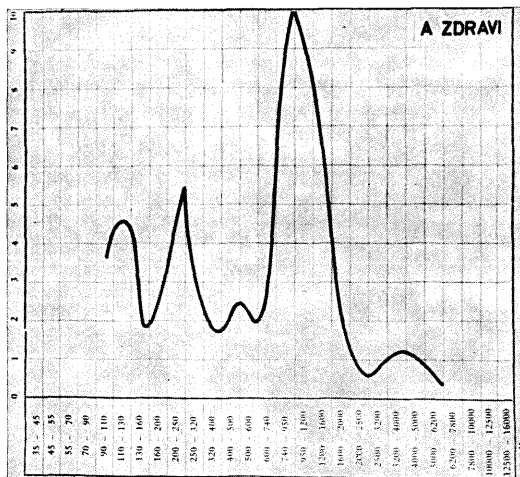
Sl. 1

Električni signal reproducirane slike dovodi se na terni filter. Taj terni filter sastoji se od 27 ternih područja, tako da je omogućena analiza u području od 25 do 16.000 Hz. Birajući pojedina terena područja, propuštamo samo ona područja električnog signala koja su unutar dotičnog ternog područja. Svaki terni pojas određen je donjom i gornjom graničnom frekvencijom, te on propušta signale samo unutar tih dviju graničnih frekvencija, dok ih izvan tih područja prigušuje otprilike za 35 Db po oktavi. Maksimalno prigušivanje frekvencije izvan propušta područja iznosi 45 Db.

Nivo električnih signala koje je propustio terni filtar registrira pokazivač nivoa. On ima svojstvo da omogućuje točno očitovanje nivoa signala čije je trajanje veće od 5 milisekundi. Kako vrijeme utitravanja filtra iznosi 4 milisekunde, to je tom aparaturom moguće izvršiti spektralne analize signala čije je trajanje dulje od 5 milisekundi. To posve odgovara za analizu glasova koji imaju dulje vrijeme trajanja (oko 10 milisekundi).

U prvoj seriji je izvršena analiza običnog kolokvijalnog glasa. Radi se o neimpostiranom muškom dubljem baritonskom glasu, koji je snimljen pod relativno inosornim uvjetima. To sam smatrao potrebnim jer su glasovi bolesnika iz dalje spektroskopske analize također muški glasovi, neškolorani, a snimani su pod relativno inosornim uvjetima. Spektroskopska analiza običnog kolokvijalnog glasa dala je sljedeće rezultate.

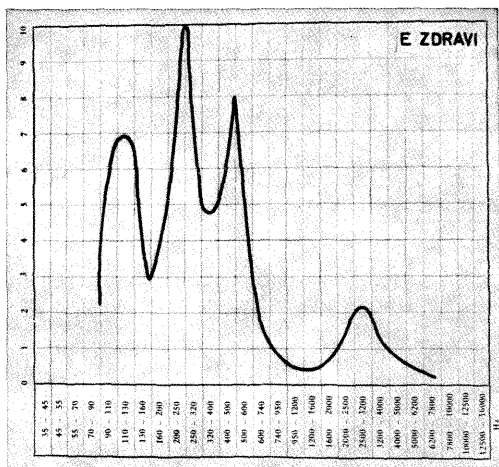
Glas »A« ima svoj kontinuirani frekventni raspon između 90 i 6.200 Hz. U tom rasponu postoji karakteristična envelope amplitude sa tri ulazna i tri silazna dijela. Prva grupa nalazi se u zoni od 110 do 190 Hz. Druga imade jedan vršak u području od 260 do 320 Hz, dok je treća grupa najšira i najjača u zoni od 740 do 1.600 Hz (sl. 2).



Sl. 2

Kod glasa »E« vidi se spektrogram koji imade isti frekventni raspon kao glas »A«, samo što je maksimalna amplituda pomaknuta ulijevo, tj. prema nižim frekvencijama. Ta široka amplituda leži u području od 110 do 600 Hz i veoma je jaka. Envelope pokazuje prema tome krivulju koja

se podiže već u najnižim frekvencijama i ostaje dalje u istoj visini, pa se spušta tek prema visokim frekvencijama i ostaje sa slabom amplitudom (sl. 3).



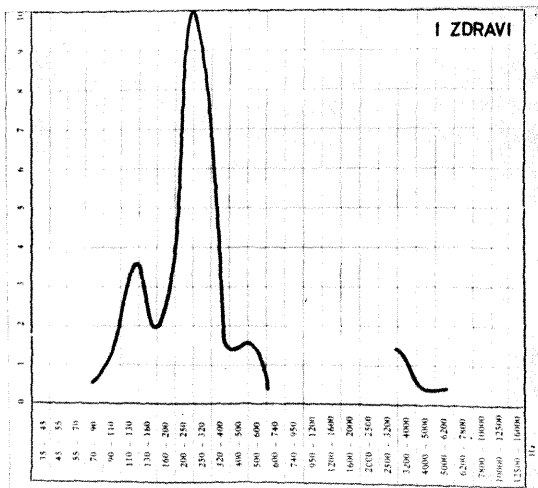
Sl. 3

Glas »I« imade frekventni raspon od 90 do 5.000 Hz, ali s karakterističnim kontinuitetom. Envelopa amplituda je podijeljena u dvije grupe. Prva je široka i amplitudno relativno dosta jaka u zoni od 90 do 160 Hz, dok je druga grupa u zoni od 320 do 500 Hz i vrlo slabe amplitude (sl. 4).

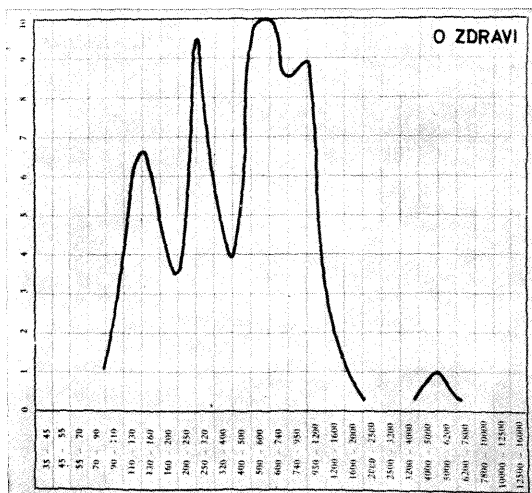
Glas »O« imade frekventni raspon diskontinuiranog tipa u zoni od 70 do 6.200 Hz. U spektru su vidljive dvije karakteristične grupe. Prva, koja je izrazito široka u zoni od 70 do 1.600 Hz, s maksimalnim amplitudama u području od 500 do 950 Hz. Druga, veoma uska grupa, jedva naznačena, nalazi se u području od 4.000 do 6.200 Hz. U njoj su amplitude izrazito slabe (sl. 5).

Glas »U« imade mnogo uži frekventni raspon od glasa »O«, a kreće se u rasponu od 70 do 1.200 Hz. Envelopa amplitude pokazuje uzlazni krak od najnižih frekvencija s maksimalom amplitude od 250 do 320 Hz. Nakon toga amplituda postepeno pada. Prema tome je spektar glasa »U« lišen amplituda u srednjem i višim tonskim područjima (sl. 6).

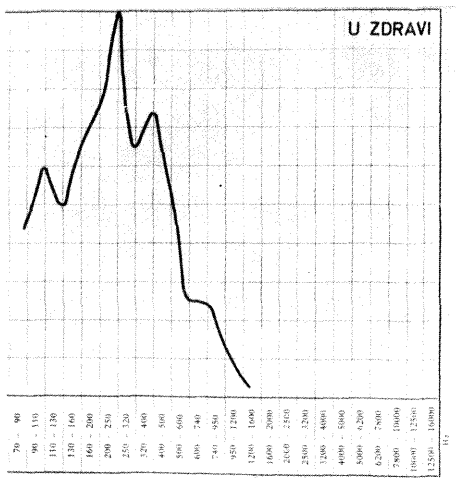
Glas »B« pokazuje frekventni raspon u području od 90 do 6.200 Hz. Karakteristično je za taj glas da imade duž čitavog raspona dobro izraženu amplitudu s brzim usponom u najnižim frekvencijama, pa sve do 500 Hz, a zatim s postepenim padom u srednjim i višim frekvencijama (sl. 7).



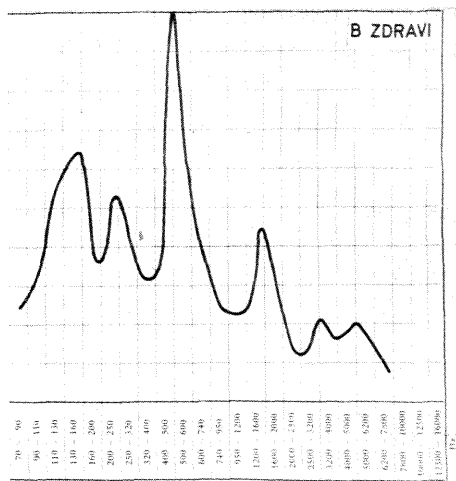
Sl. 4



Sl. 5



Sl. 6



Sl. 7

Glas »R« imade veoma širok frekventni spektar u području od 70 do 7.800 Hz. Envelopa amplituda je veoma sadržajna, ima pet uspona i isto toliko silaženja, uz maksimalnu amplitudu u zoni od 500 do 600 Hz (sl. 8).

Glas »T« imade frekventni raspon u zoni od 90 do 7.800 Hz. Envelopa amplituda pokazuje četiri uzlazna i isto toliko silaznih dijelova. Maksimalna amplituda leži u zoni od 500 do 600 Hz. (sl. 9).

Kod glasa »Š« vidi se važan pomak čitavog frekventnog raspona ulijevo, tj. u području od 45 do 3.200 Hz, odnosno pomak prema najnižim frekvencijama. Envelopa amplituda pokazuje krivulju s blagim usponom u niskim frekvencijama uz maksimalnu amplitudu od 500 do 600 Hz, a zatim s naglim padom (sl. 10).

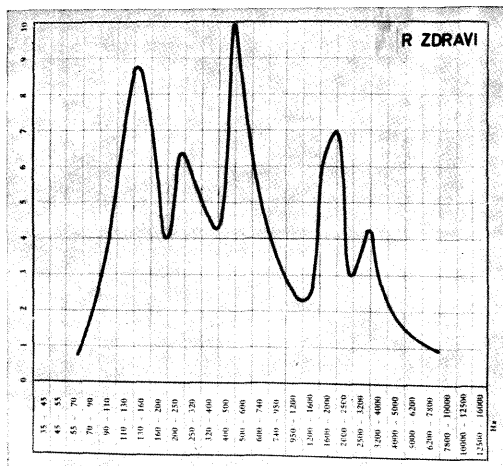
Glas »N« imade frekventni sektor u zoni 70 do 5.000 Hz. Karakteristično je za taj glas da je čitava grupa izraženih amplituda pomaknuta u niske frekvencije s maksimalom u području od 250 do 320 Hz, što je posve karakteristično prema ostalim glasovima. Raspon spektra od 600 do 5.000 Hz imade veoma slabo izraženu snagu amplituda (sl. 11).

U svojim daljim istraživanjima podvrgnuo sam spektroskopskoj analizi dvije grupe laringektomiranih bolesnika, što sam ih formirao na osnovu stupnja usvojenosti ezofagealnog glasa i govora. U prvu grupu stavio sam bolesnike s veoma dobrom inteligibilnošću ezofagealnog govora. U drugu grupu, međutim, svrstao sam bolesnike kod kojih je usvojeni ezofagealni glas i govor bio nešto slabije inteligibilan, ali je još uvijek zadržao sve elemente ezofagealnog govora. Kod svih su snimani glasovi preoperativno kao i postoperativno s naknadno usvojenim ezofagealnim glasovima. Ovdje je neobično važno napomenuti da je preoperativni glas svima bio promukao, jer je karcinom atakirao područje glasiljaka. Također je važno napomenuti da je rezultat ezofagealnog glasa bio bolji kod prve grupe pacijenata nego kod druge, pa će i to biti od velike analitičke koristi pri komparaciji u spektroskopskoj analizi.

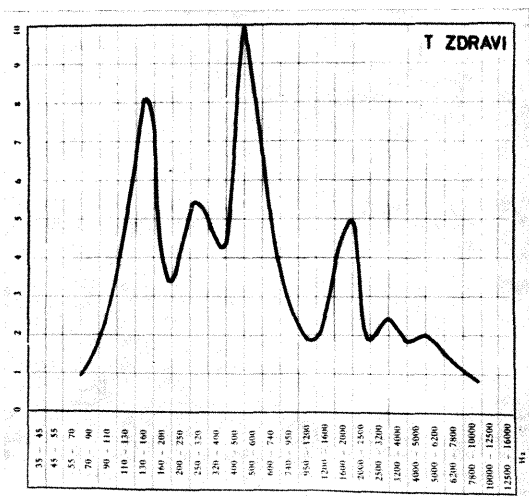
Spektroskopska analiza glasova kod prve grupe bolesnika prije i poslije operacije:

Glas »A«. U njegovu spektru vidi se bitna razlika prije i poslije operacije. Prije operacije spektar je kontinuiran a envelopa maksimalnih amplituda pokazuje stalni uspon. Područje maksimalnih amplituda je široko područje od 520 do 1600 Hz. Nakon operacije kod ezofagealnog glasa spektar je kontinuiran i pokazuje dvije grupe maksimalnih amplituda. Jedna je u području od 70 do 200 Hz, a druga je u području od 740 do 1600 Hz. Međupodručje od 320 do 740 Hz karakteristično je za preoperativni glas, gdje su naznačene veće amplitude nego kod ezofagealnog glasa u istom međupodručju (sl. 12+13).

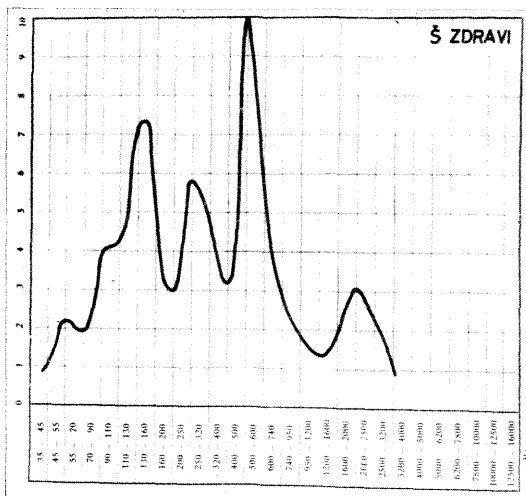
Glas »E« imade kontinuirani spektar, koji se pokazuje kod glasa prije operacije s karakteristične dvije grupe većih intenziteta. Jedna grupa je u području od 250 do 600 Hz, a druga u području od 2000 do 3200 Hz. Nakon operacije kod ezofagealnog glasa gornje frekventno područje se proširuje i povećava, kako po pojasu spektra, tako i po amplitudi. Širina spektra u tom području je od 1600 do 6200 Hz. Niži pojas od 320 do



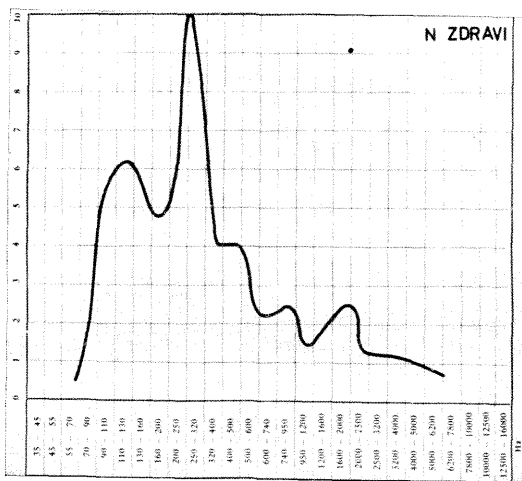
Sl. 8



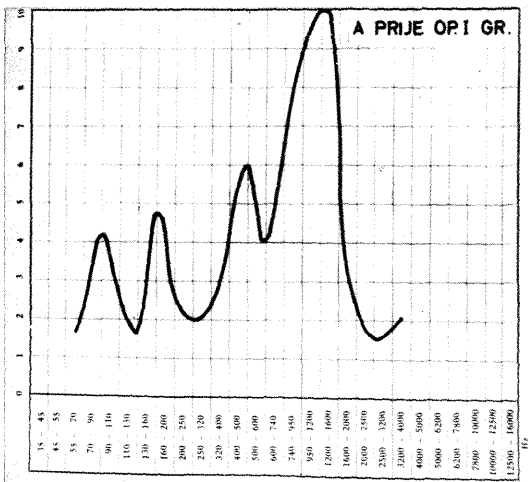
Sl. 9



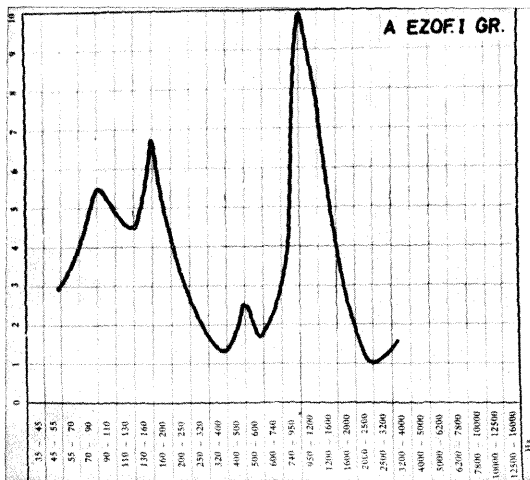
Sl. 10



Sl. 11



Sl. 12



Sl. 13

600 Hz malo se izmijenio, ali je zato nastao čitav jedan novi pojas velikih amplituda u nižem frekventnom području od 45 do 250 Hz (sl. 14+15).

Glas »I«. Prije operacije vidi se samo jedan uski kontinuirani spektar od 160 do 740 Hz s maksimalnim intenzitetom u području od 320 do 400 Hz. Ezofagealni glas sadrži, međutim, jedan kontinuirani pojas u području od 55 do 600 Hz. Karakteristično je za taj glas da se u području od 70 do 200 Hz pojavljuje niz izrazito velikih amplituda (sl. 16+17).

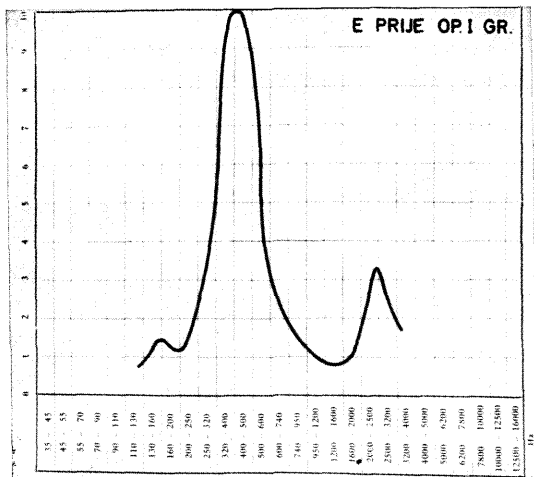
Glas »O«. Tu postoji karakteristična razlika u spektru prije operacije i nakon operacije. Glas »O« prije operacije imade svega jednu grupu s izrazito jakim intenzitetom amplitude u rasponu od 160 do 1200 Hz. Kod ezofagealnog glasa vide se dvije grupe potpuno odvojene unutar spektra. Prva grupa leži u području od 70 do 320 Hz, dok se druga grupa nalazi u području od 500 do 1200 Hz s maksimalnom amplitudom od 740 do 950 Hz (sl. 18+19).

Glas »U«. I kod tog glasa vidimo da postoje dva različita spektra. Jedan je kod stanja prije operacije, a sasvim drugi kod ezofagealnog glasa. U spektru preoperativnog glasa vide se dvije grupe. Međutim, kod ezofagealnog glasa također se uočavaju dvije grupe unutar spektra. Razlika je među njima u tome što spektar prije operacije imade intenzivniju prvu grupu, koja leži u području od 45 do 160 Hz, unutar koje se nalazi i maksimalne amplitude, dok je druga grupa šira, ali intenzitetno slabija u zoni od 250 do 740 Hz (sl. 20+21).

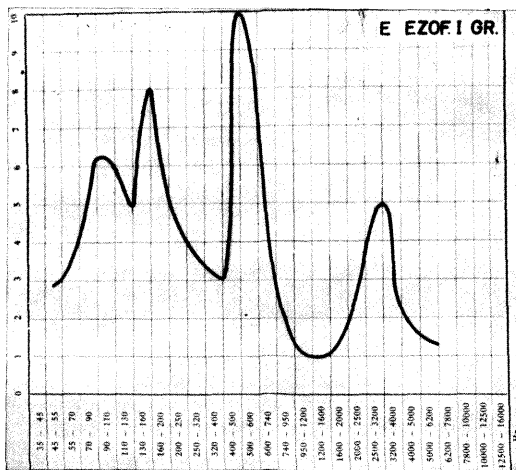
Glas »B«. Kod njega vidimo ogromnu razliku u spektru prije i poslije operacije. Glas prije operacije imade diskontinuirani spektar s dvije grupe. Prva se nalazi u nižem frekventnom području od 45 do 200 Hz, sa slabim amplitudama, dok se druga grupa, šireg raspona i jačih amplituda, nalazi u području od 400 do 2500 Hz. Njegova maksimalna amplituda leži u zoni od 400 do 500 Hz. Ezofagealni glas imade, naprotiv, kontinuirani široki spektar u rasponu od 45 do 7800 Hz, unutar kojeg se vide područja s maksimalnim amplitudama. Prvo takvo područje leži u zoni od 130 do 160 Hz, drugo područje od 600 do 700 Hz, a treće u području od 1200 do 1600 Hz. U tom spektru vidi se da je više frekventno područje izrazito jako u amplitudama (sl. 22+23)

Glas »T«. Spektar glasa »T« imade različite raspone prije i poslije operacije. Spektar prije operacije užu je i pomaknut je više udesno, u više frekventno područje u zoni od 160 do 6200 Hz. Amplitude su duž cijelog spektra dobro izražene s maksimalom od 1200 do 1600 Hz. Spektar ezofagealnog glasa »T« je, međutim, širi od preoperativnog, sa tri izrazito jake grupe amplituda. Prva grupa se nalazi u zoni od 130 do 160 Hz, druga u području od 600 do 740 Hz, gdje leži i maksimalna amplitude, i konačno treća u području od 1600 do 2000 Hz s izrazito slabim amplitudama (sl. 24+25).

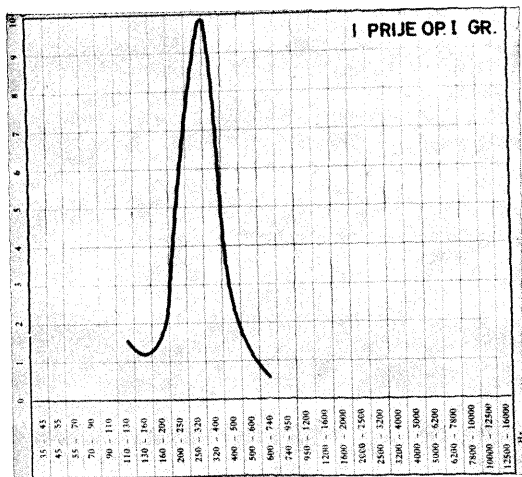
Glas »R«: vidi se da je opet spektar veoma različit između preoperativnog i ezofagealnog glasa. Spektar prije operacije je relativno uzak i obuhvaća područje od 1200 do 3200 Hz. Njegove amplitude su osrednje izražene s maksimalom u području od 320 do 400 Hz. Spektar ezofageal-



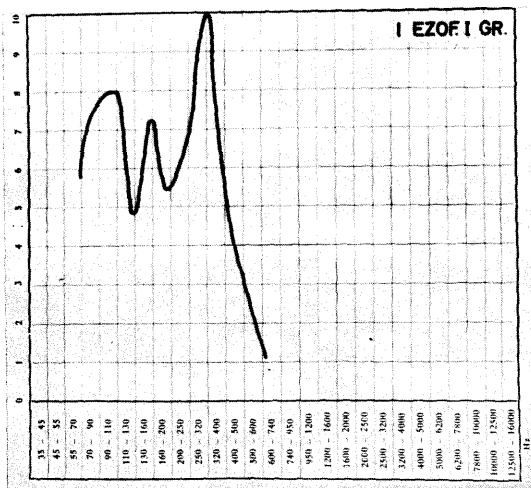
Sl. 14



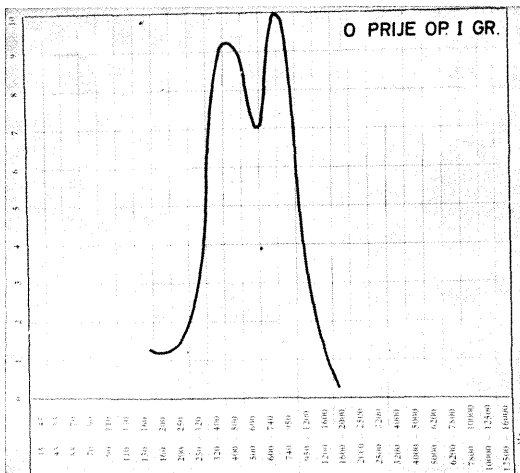
Sl. 15



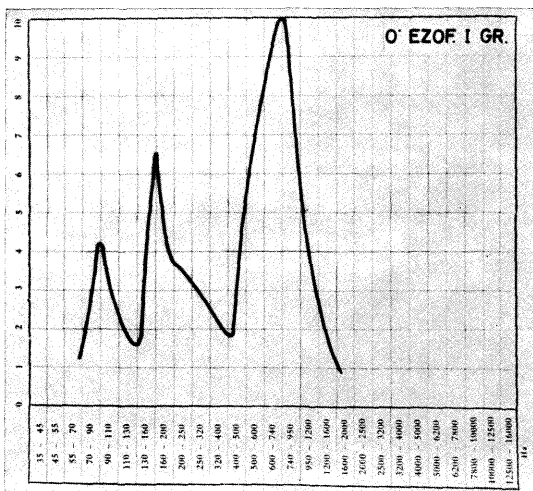
Sl. 16



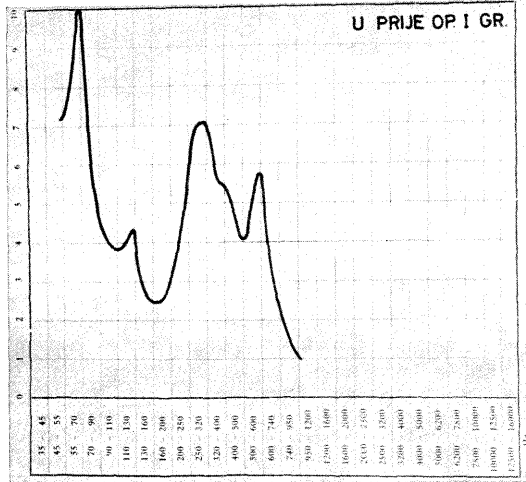
Sl. 17



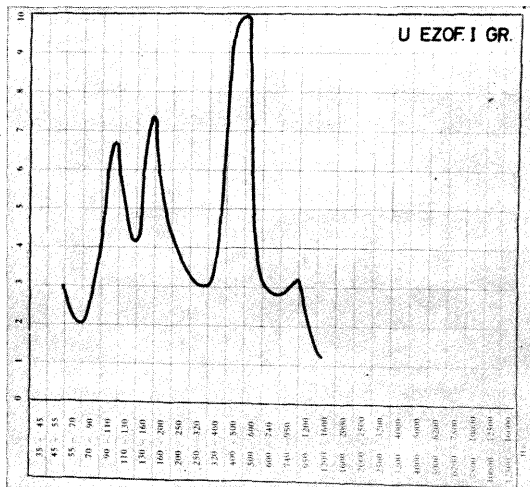
Sl. 18



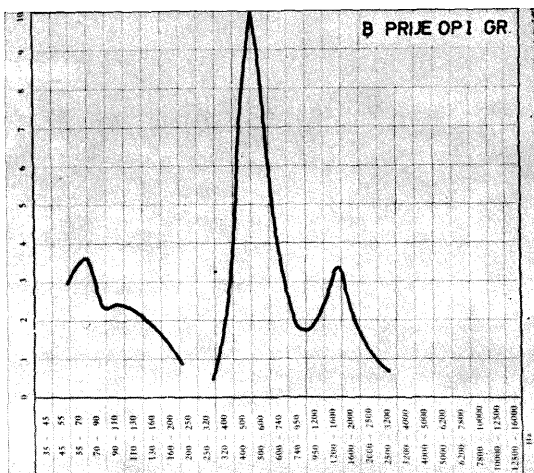
Sl. 19



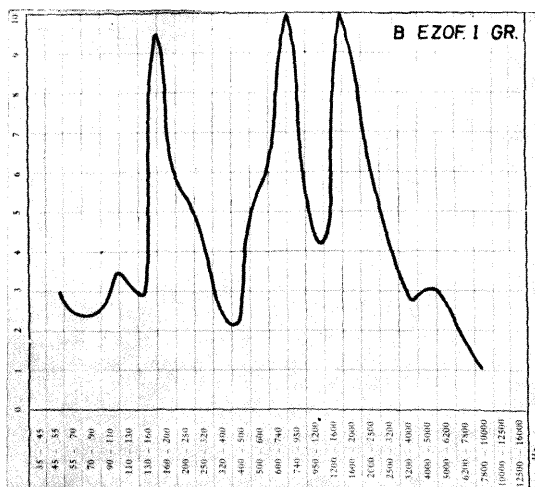
Sl. 20



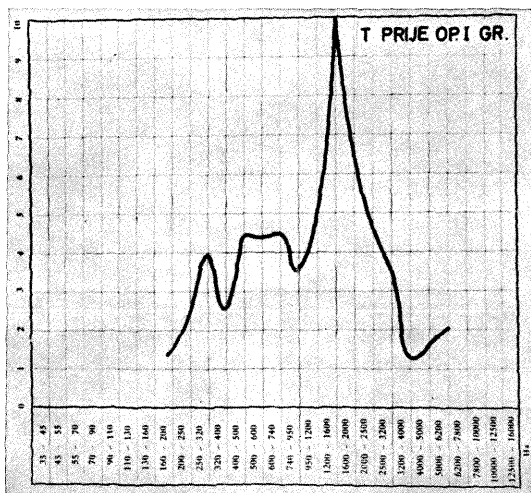
Sl. 21



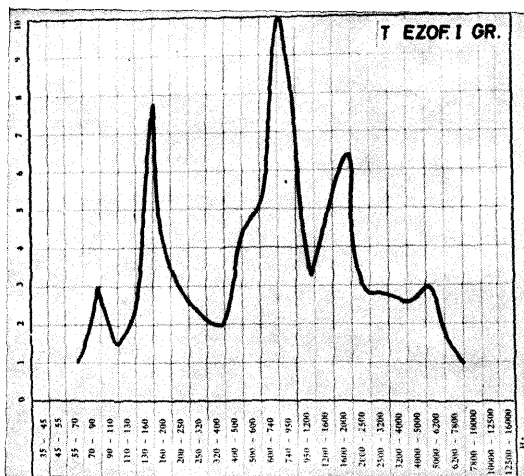
Sl. 22



Sl. 23



Sl. 24



Sl. 25

nog glasa, međutim mnogo je širi. Snaga njegovih amplituda leži u višem frekventnom području od 600 do 3200 Hz s maksimalom koja se nalazi u zoni od 1600 do 2000 Hz. Više frekventno područje imade slabo izražene amplitude (sl. 26+27).

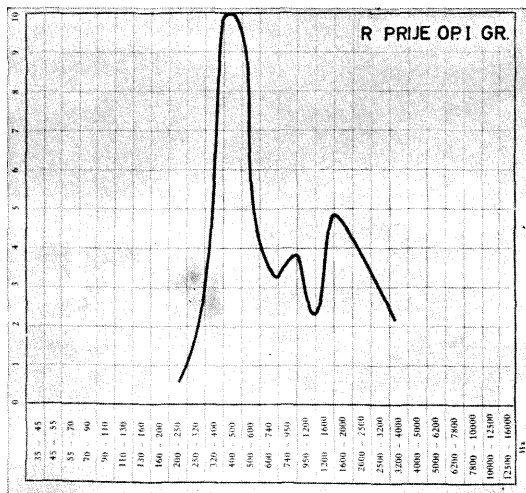
Glas »Š«: njegov spektar osobito je diferentan. Prije operacije vidi se karakteristično diskontinuirani spektar sa dva široko odijeljena područja. Prvo područje leži u rasponu od 35 do 200 Hz, dakle u vrlo niskom frekventnom području, a drugo se nalazi u rasponu od 950 do 3200 Hz, dakle u nešto više frekventnom području. Čitavo niže frekventno područje imade minimalno naznačenu amplitudu, dok više frekventno područje imade jače amplitude s maksimalom koja leži u području od 600 do 2000 Hz. Spektar ezofagealnog glasa »Š« je uzak i pomaknut potpuno udesno, tj. u više frekventno područje. Intenzitet amplituda je osrednje izražen, s maksimalom koja se nalazi u području od 1600 do 2000 Hz (s 28+29).

Glas »N«. Kod njega vidimo prije operacije spektar nešto uži, sa dva odijeljena područja amplituda. Prvo područje se nalazi u nižim frekvencijama, s maksimalom u zoni od 250 do 320 Hz, dok se drugo područje nalazi u nešto višim frekvencijama, s slabim amplitudama. Spektar ezofagealnog glasa »N« širi je od ranijeg, no imade također dva karakteristična područja. Prvo se nalazi u području nižih frekvencija i imade jači intenzitet, pa tu leži i njegova maksimala u zoni od 130 do 160 Hz, dok je drugo područje smješteno u nešto više frekventno područje, ali s nešto slabijim amplitudama (sl. 30+31).

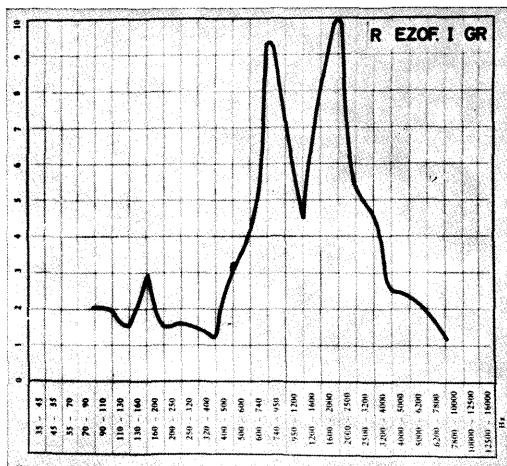
Da bi komparativna analitička analiza dobivena spektroskopskom analizom bila što vjernija, odlučio sam usporediti ezofagealni glas s kolo-kvijalnim normalnim glasom dubljeg baritonskog registra. Ta usporedba omogućuje da se bolje uoče detalji u elementima po kojima se razlikuje ezofagealni glas od normalnog glasa.

Komparacija glasa »A«, normalnog i ezofagealnog: Zdravi muški glas i ezofagealni glas »A« pokazuju u kontinuiranom spektru dvije istaknute grupe. Gornja grupa, tj. više tonsko područje, imade isti frekventni raspon od 600 do 1600 Hz, dok niža grupa, tj. niže tonsko područje, imade kod ezofagealnog glasa jače amplitude nego zdravi glas i čitav je raspon pomaknut u niže frekventno područje od 45 do 350 Hz, dok se kod zdravog glasa to područje nalazi nešto više u porastu, od 70 do 320 Hz s manjom amplitudom (sl. 32+33).

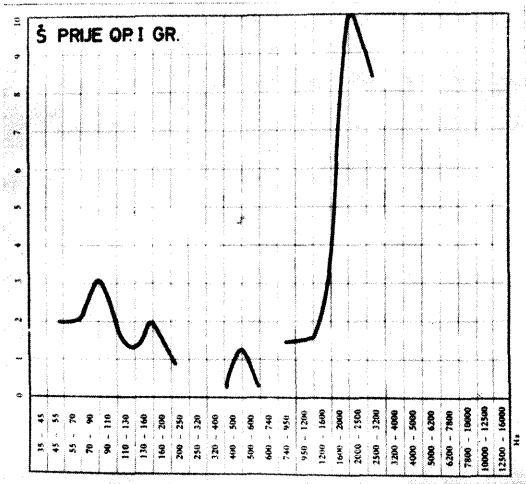
Komparacija glasa E«, normalnog s ezofagealnim: Raspon frekvencije kod zdravog glasa je u području od 70 do 6200 Hz dok taj raspon kod ezofagealnog glasa leži u području od 45 do 6200 Hz. Područje u rasponu od 2000 do 6200 Hz pokazuje kod ezofagealnog glasa veće amplitude nego kod zdravog glasa. Naročito velik pojas amplituda kod ezofagealnog glasa vidi se u području od 75 do 740 Hz, tj. u nižem frekventnom području, što nije slučaj kod zdravog glasa (sl. 34+35).



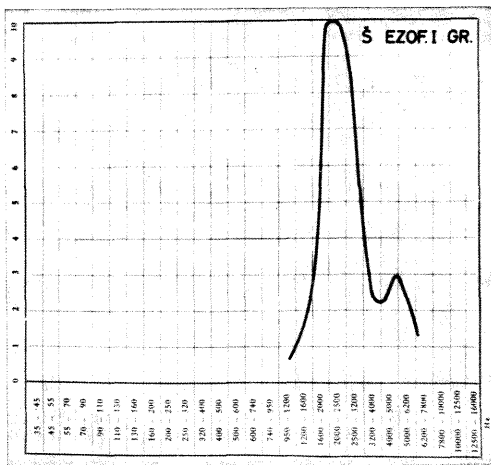
Sl. 26



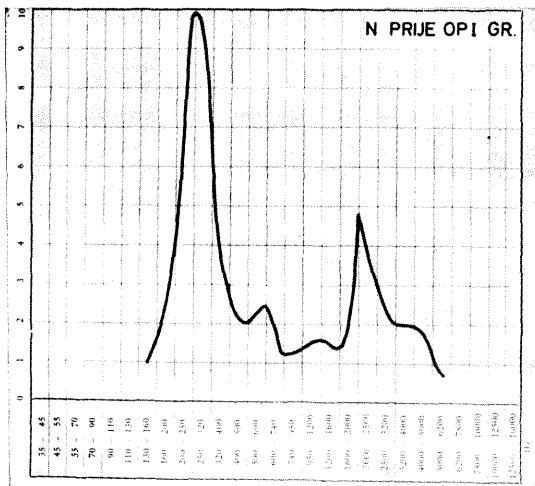
Sl. 27



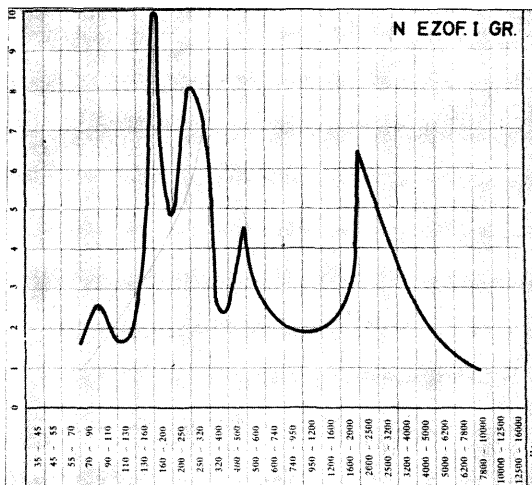
Sl. 28



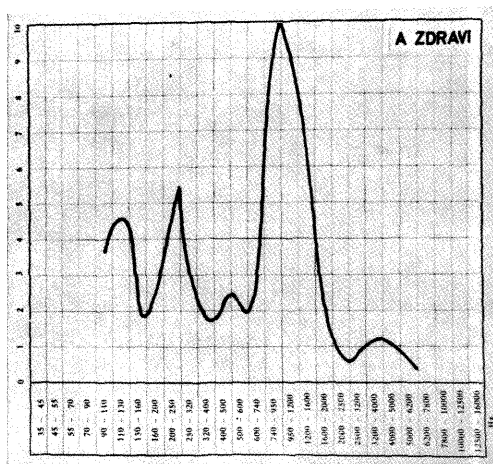
Sl. 29



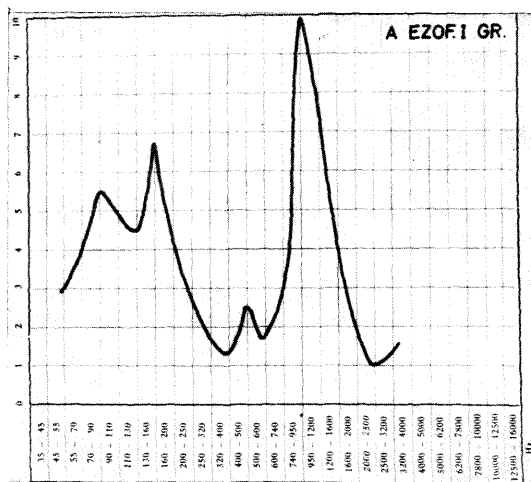
Sl. 30



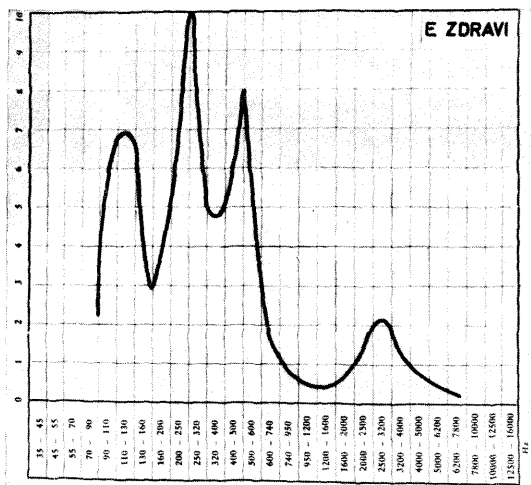
Sl. 31



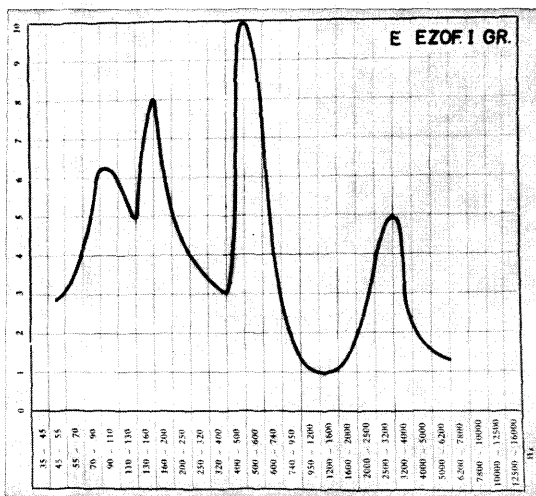
Sl. 32



Sl. 33



Sl. 34



Sl. 35

Komparacija glasa »I«, normalnog s ezofagealnim: Bitna razlika između ova dva glasa sastoji se u tome što zdravi glas imade karakterističan diskontinuirani spektar sa dva područja: prvo, niže frekventno područje, koje se nalazi u zoni od 70 do 600 Hz, i drugo, više frekventno područje, koje se nalazi u zoni od 2500 do 5000 Hz. Kod ezofagealnog govora to više frekventno područje uopće ne postoji, dok niže frekventno područje postoji i pokazuje jače amplitude nego kod zdravog glasa, u zoni od 55 do 200 Hz (sl. 36+37).

Komparacija glasa »O«, normalnog s ezofagealnim: Ovdje postoji bitna razlika između dva glasa. Normalni glas imade diskontinuirani spektar. Unutar spektra postoje dvije odvojene grupe. Prva grupa nalazi se u području od 110 do 1200 Hz, pa je prema tome široka, s veoma izraženim amplitudama. Druga grupa nalazi se u zoni od 4000 do 6200 Hz, s izrazito slabijim amplitudama. Kod ezofagealnog glasa »O« imademo također dvije grupe: prva, u području od 70 do 320 Hz, a druga u području od 500 do 1200 Hz. Maksimala se nalazi od 740 do 950 Hz (sl. 38+39).

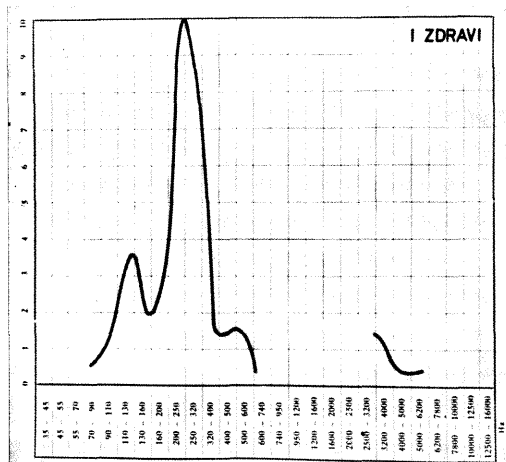
Komparacija glasa »U«, normalnog i ezofagealnog: Normalni glas »U« imade kontinuirani spektar od 70 do 1200 Hz, s veoma izraženim amplitudama gotovo u čitavom spektru. Kod tog glasa ne vide se podjele spektra, a maksimala amplituda leži u zoni od 200 do 250 Hz. Naprotiv kod ezofagealnog glasa »U« vide se dvije grupe unutar spektra, prva od 45 do 160 Hz, a druga od 250 do 740 Hz (sl. 40+41).

Komparacija glasa »B«, normalnog s ezofagealnim: Normalni glas »B« ima kontinuirani spektar kao i ezofagealni glas, ali je on uži. Tu se vide mnogo izražajnije amplitude u nižem frekventnom području, dok je maksimala smještena u zoni od 400 do 500 Hz. Više frekventno područje ima relativno slabe amplitude. Spektar kod ezofagealnog glasa je širi i obuhvaća zonu od 45 do 7800 Hz, sa tri područja posve odvojena. Prvo je u zoni od 130 do 160 Hz, drugo od 600 do 700 Hz, dok je treće u zoni od 1200 do 1600 Hz (sl. 42+43).

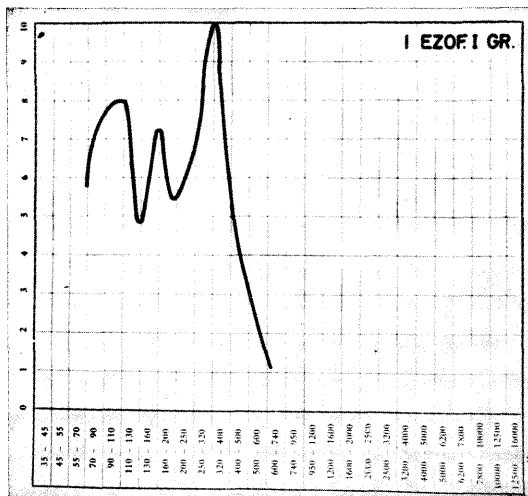
Komparacija glasa »T«, normalnog s ezofagealnim: Spektar normalnog glasa ima izrazitu snagu amplituda u širem području od 110 do 740 Hz. Njegova maksimala leži u zoni od 400 do 500 Hz. Prema tome se maksimalna amplituda kod normalnog glasa nalazi u nižem frekventnom području nego kod ezofagealnog glasa »T« (sl. 44+45).

Komparacija glasa »R«, normalnog s ezofagealnim: Spektar normalnog glasa »R« relativno je dosta širok. Snaga njegovih amplituda dobro je izražena duž čitavog spektra, ali postoji osobita snaga u nižem frekventnom području, gdje leži maksimala u zoni od 400 do 500 Hz. Prema tome se normalni »R« upravo po tome i razlikuje od ezofagealnog glasa »R«, jer je kod njega područje većih amplituda smješteno u više frekventno područje (sl. 46+47).

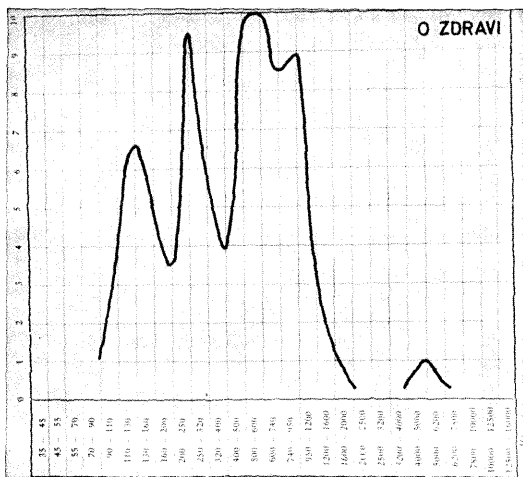
Komparacija glasa »Š«, normalnog s ezofagealnim: Spektar normalnog glasa »Š« pomaknut je sasvim ulijevo, tj. u niže frekventno područje. Područje amplituda je izraženije u nižim frekvencijama, gdje se nalazi i maksimala u zoni od 400 do 500 Hz. Više frekventno područje osku-



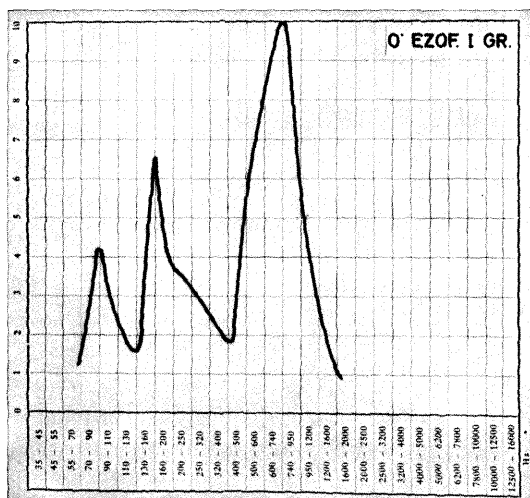
Sl. 36



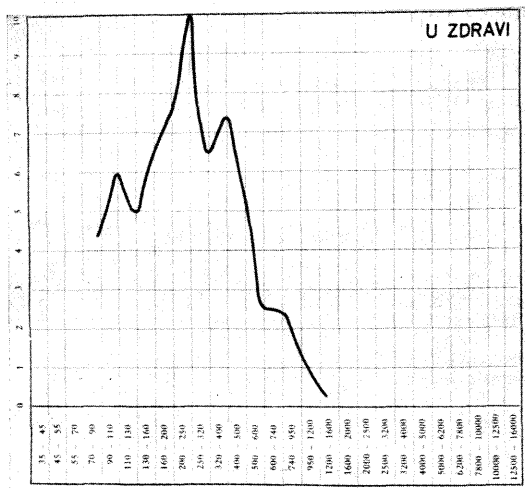
Sl. 37



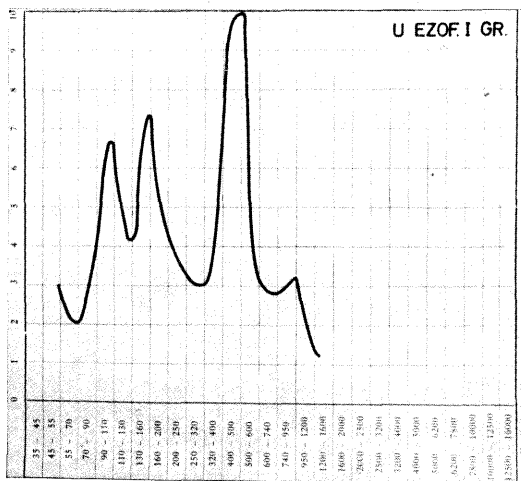
Sl. 38



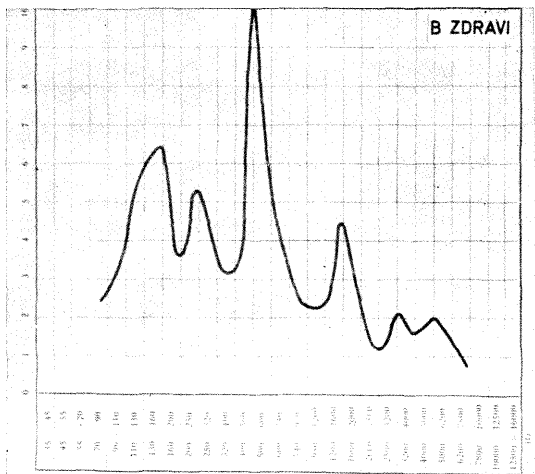
Sl. 39



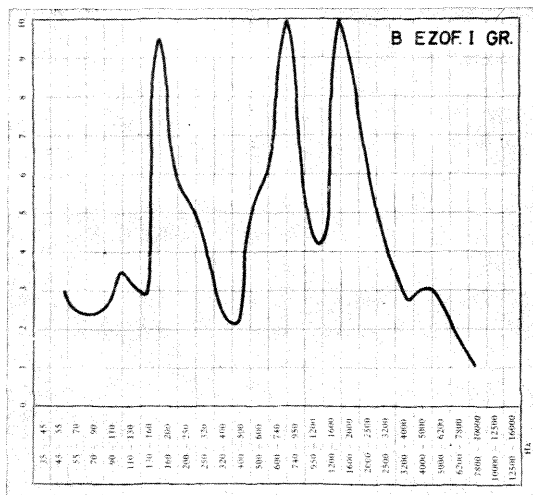
Sl. 40



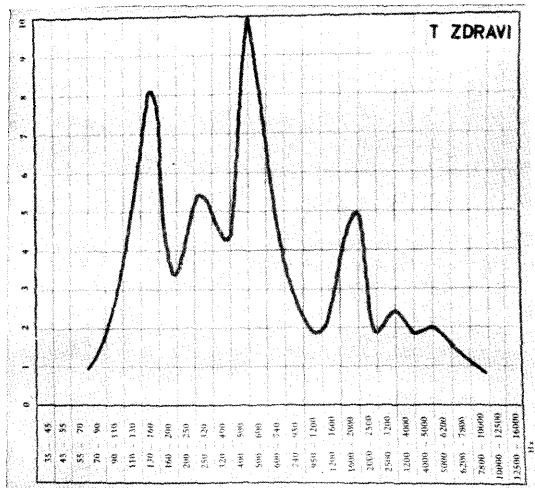
Sl. 41



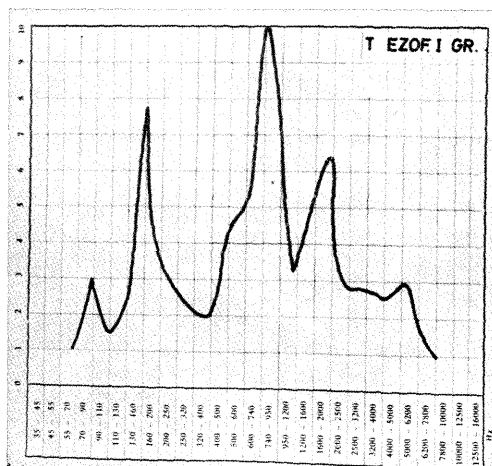
Sl. 42



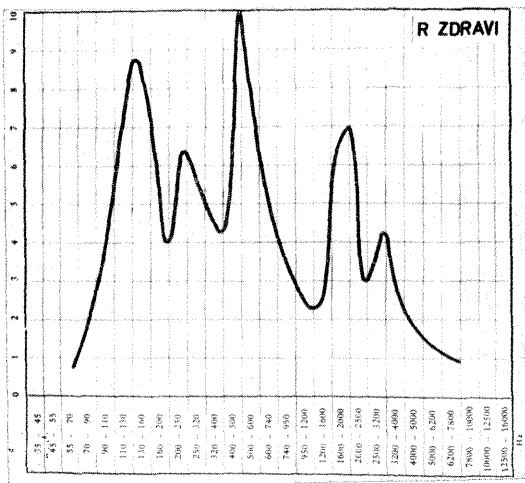
Sl. 43



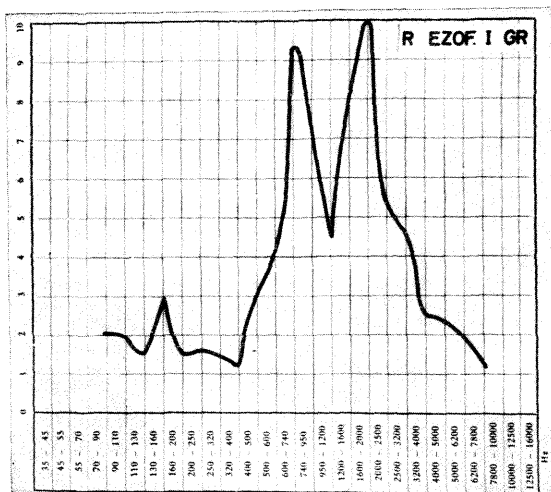
Sl. 44



Sl. 45



Sl. 46



Sl. 47

dno je u amplitudama. Nasuprot tome, spektrar glasa »Š« je uži i pomaknut potpuno udesno, tj. u više frekventno područje. Njegova maksimalna amplituda nalazi se u području od 1600 do 2000 Hz. Prema tome, postoji izrazita i karakteristična razlika u položaju spektra normalnog i ezofagealnog glasa »Š« (sl. 48+49).

Komparacija glasa »N«, normalnog s ezofagealnim: Spektrar zdravog glasa »N« je relativno širok. Snaga njegovih amplituda smještena je samo u niže frekventno područje, gdje se nalazi i maksimala u zoni od 200 do 250 Hz. Kod ezofagealnog glasa »N« vidimo unutar spektra dva karakteristična područja. Prvo je niže, s jačim amplitudama, gdje leži maksimala u zoni od 130 do 160 Hz, dok je drugo područje nešto više, ali sa slabim amplitudama (sl. 50+51).

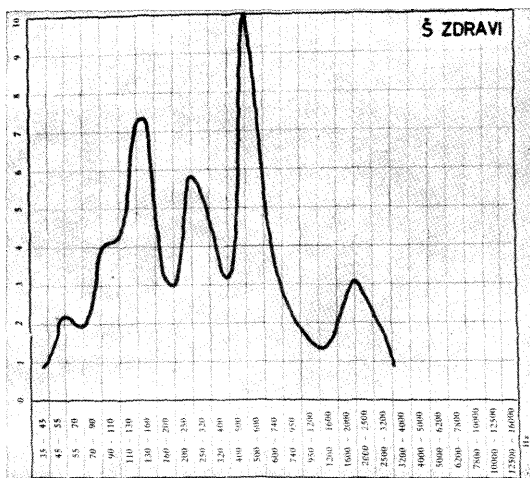
U daljem postupku izvršio sam spektroskopsku analizu glasova kod druge grupe bolesnika, kako prije, tako i poslije operacije. Rezultati koje sam dobio u spektralnoj analizi su sljedeći:

Glas »A«. Kod njega se vidi razlika u spektru prije i poslije operacije. Prije operacije spektrar je sužen u rasponu od 110 do 1600 Hz. Područje maksimalnih amplituda leži u zoni od 160 do 250 Hz. Nešto slabije područje amplituda nalazi se u zoni od 950 do 1600 Hz. Spektrar glasa »A« iza operacije, tj. ezofagealnog glasa, širok je, s pomakom ulijevo, odnosno u nisko frekventno područje od 45 do 3200 Hz. Područje maksimalnih amplituda prostire se gotovo duž čitavog spektra, ali se ipak u njemu primjećuju dvije izrazitije grupe. Prva grupa je u zoni od 45 do 320 Hz, a druga se nalazi u području od 740 do 1600 Hz (sl. 52+53).

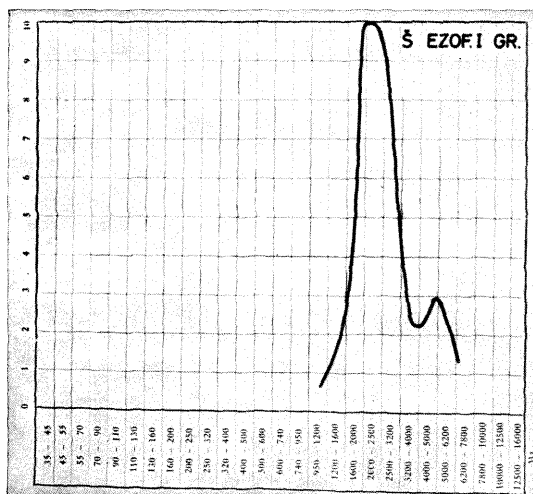
Glas »E«. Taj glas je također veoma različit prije operacije i poslije operacije. Spektrar prije operacije je vrlo uzak, te leži u području od 110 do 740 Hz. Maksimalna amplituda nalazi se u zoni od 130 do 250 Hz. Spektrar ezofagealnog glasa »E« je, međutim, mnogo širi i leži u području od 55 do 2000 Hz. Područje maksimalnih amplituda nalazi se u nižem frekventnom području, relativno je široko i obuhvaća zonu od 55 do 740 Hz. Preostali dio spektra imade slabije izražene amplitude (sl. 54+55).

Glas »I«. Kod njega postoje dva različita spektra. Jedan prije operacije, koji je relativno veoma uzak i obuhvaća područje od 110 do 600 Hz. Kod njega je područje maksimalne amplitude smješteno u zoni od 160 do 250 Hz. Drugi spektrar kod ezofagealnog glasa »I« je nešto širi, ali s pomakom ulijevo, tj. u niže tonsko područje, te se nalazi u zoni od 45 do 950 Hz. Karakteristično je za taj glas što se envelopea postepeno penje od nižih prema višim frekvencijama, s time da je maksimala amplituda u zoni od 400 do 500 Hz. Nakon toga amplituda u čitavom spektru naglo pada (sl. 56+57).

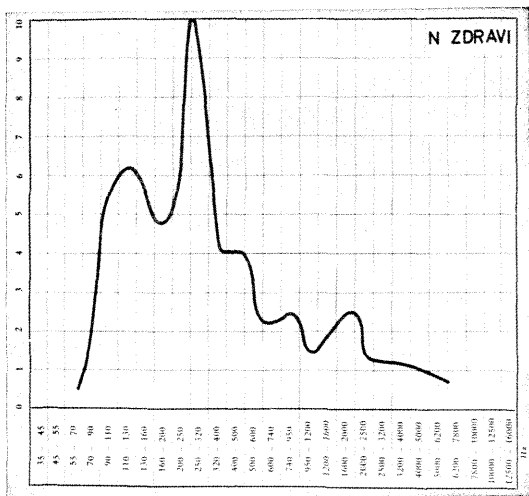
Glas »O«. Kod njega vidimo uglavnom istu širinu spektra i prije operacije i poslije operacije. Spektrar prije operacije je pomaknut ulijevo, tj. u niže frekventno područje, a nalazi se u zoni od 45 do 450 Hz. Kod njega postoje dva područja. Prvo je područje maksimalnih amplituda u zoni od 130 do 250 Hz, a drugo područje s nešto slabijim amplitudama nalazi se u zoni od 400 do 950 Hz. Treba napomenuti da je najniže frekventno područje izraženo minimalnim amplitudama. Spektrar ezofage-



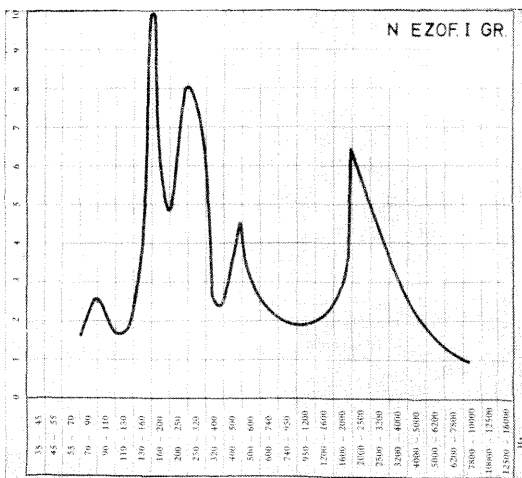
Sl 48



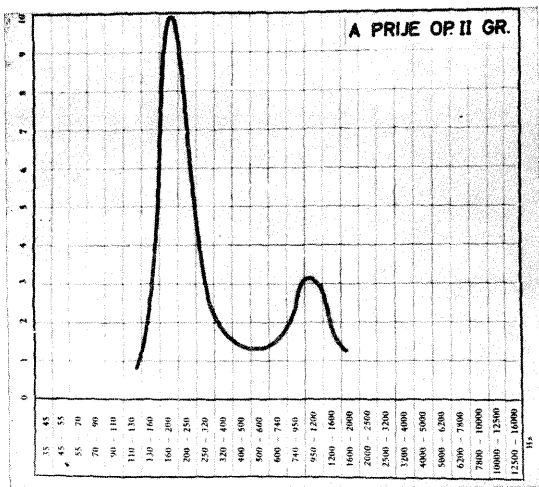
Sl. 49



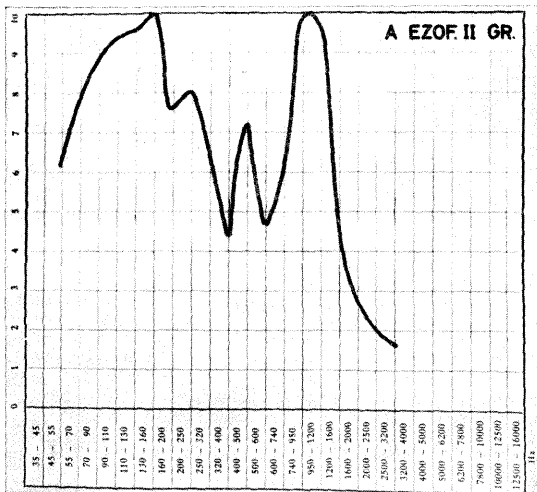
Sl. 50



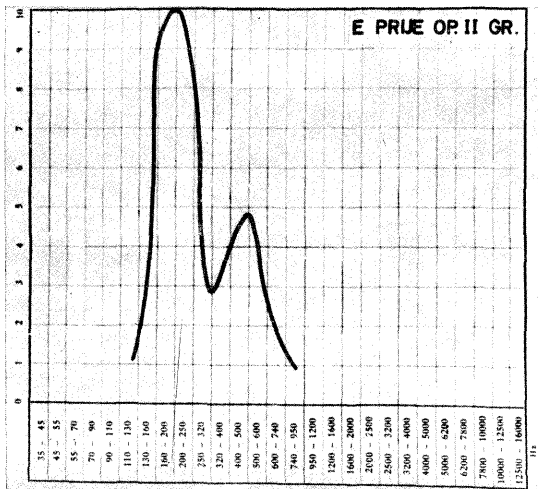
Sl. 51



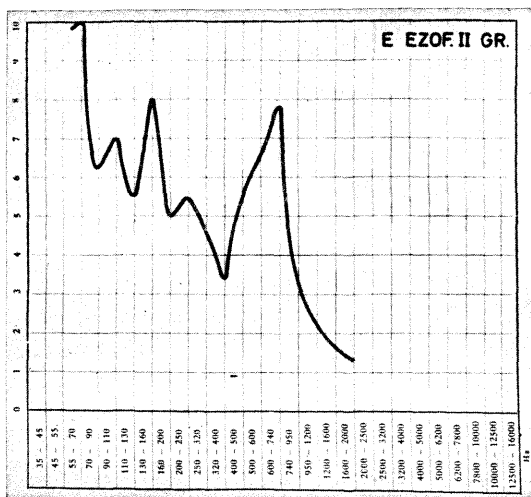
Sl. 52



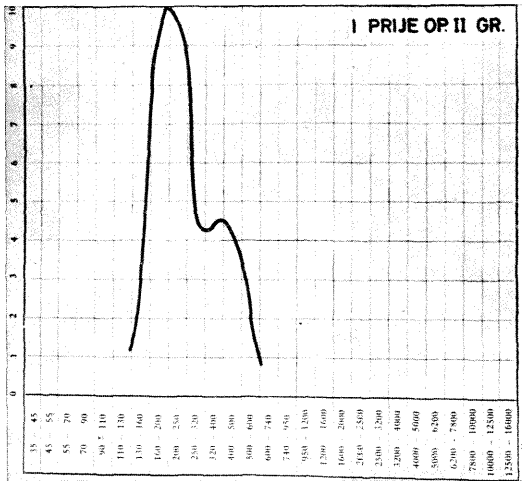
Sl. 53



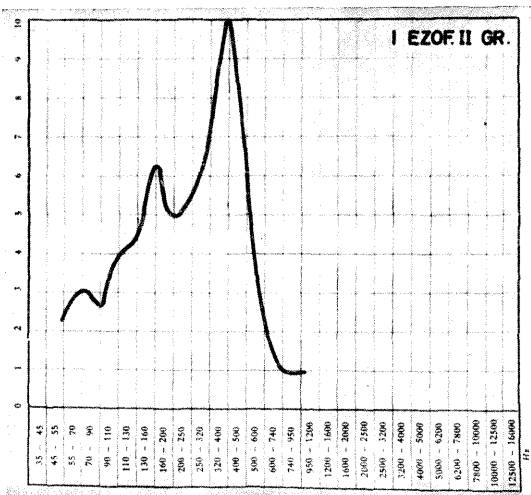
Sl. 54



Sl. 55



St. 56



St. 57

alno glasa »O« nalazi se u zoni od 70 do 2000 Hz. Njegovo područje maksimalnih amplituda nalazi se u zoni od 500 do 740 Hz. Preostali spektar imade slabije izražene amplitude (sl. 58+59).

Glas »U«. Njegov spektar je veoma sličan i prije i poslije operacije. Spektar prije operacije nalazi se u rasponu od 45 do 740 Hz. Amplitude su kod njega veoma izražene duž čitavog spektra, s maksimalom od 160 do 250 Hz. Spektar ezofagealnog glasa »U« samo je nešto širi od ranije spomenutog spektra i obuhvaća raspon od 45 do 950 Hz. Njegova envelope se postepeno penje do nižih frekvencija prema višim, a maksimala se nalazi u zoni od 400 do 600 Hz (sl. 60+61).

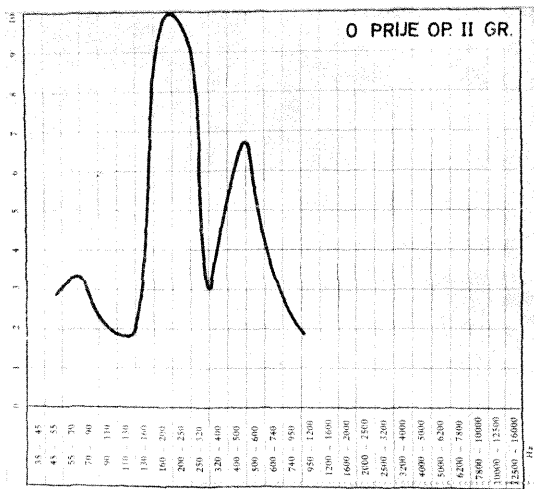
Glas »B«. Kod njega vidimo dva različita spektra. Prije operacije taj spektar obuhvaća zonu od 110 do 6200 Hz. Maksimalne amplitude leže u zoni od 130 do 250 Hz, dok se prema višim frekvencijama te amplitude postepeno gube. Ezofagealni glas »B« imade izvanredno širok spektar, koji obuhvaća raspon od 55 do 10.000 Hz. U njemu postoje dvije karakteristične grupe. U prvoj grupi, koja obuhvaća zonu od 70 do 250 Hz, amplitude su slabije izražene, dok je u drugoj grupi spektralno područje mnogo šire, s izrazitim amplitudama, a maksimala se nalazi u području od 2000 do 2500 Hz (sl. 62+63).

Glas »T«. On imade također dva različita spektra. Preoperativni spektar je nešto malo uži, te se nalazi u rasponu od 110 do 6200 Hz. Njegove maksimalne amplitude nalaze se u nižem frekventnom području u zoni od 160 do 320 Hz. Nakon toga amplitude unutar spektra postepeno slabije. Kod ezofagealnog glasa »T« vidi se obrnuta situacija. Spektar je širi od ranije opisanog i nalazi se u rasponu od 70 do 10.000 Hz. Amplitude se postepeno penju unutar spektra, a maksimala je smještena u područje od 1600 do 2000 Hz (sl. 64+65).

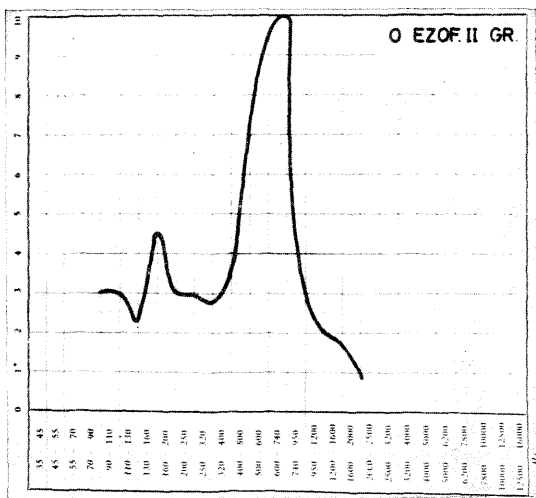
Glas »R«. Spektar glasa »R« prije operacije nalazi se u rasponu od 90 do 7800 Hz. Njegovo područje maksimalnih amplituda smješteno je u zoni od 160 do 250 Hz, dakle u nižem frekventnom području. Prema višem frekventnom području amplitude postepeno slabije. Situacija je, međutim, posve obrnuta u spektru ezofagealnog glasa »R«. Taj spektar obuhvaća zonu od 70 do 10.000 Hz. Njegovo područje maksimalnih amplituda nalazi se u zoni od 2000 do 2500 Hz. Nakon toga unutar spektra amplitude počinju izrazito slabiti (sl. 66+67).

Glas »Š«. Njegov preoperativni spektar nalazi se u zoni od 90 do 6200 Hz. Postoje tri karakteristične grupe. Prva grupa je najšira i leži u zoni od 130 do 320 Hz, pa se u tom području nalaze i maksimalne amplitude. Druga grupa je uža i leži u zoni od 500 do 740 Hz s nešto slabijim amplitudama. U trećoj grupi, koja obuhvaća područje od 1600 do 4000 Hz, amplitude su najslabije izražene. Ezofagealni glas »Š« imade široki spektar u zoni od 70 do 10.000 Hz. Za taj spektar je karakteristično da amplitude u njemu postepeno jačaju, počevši od najnižeg frekventnog područja prema višem. Područje maksimalne amplitude nalazi se u zoni od 2000 do 5000 Hz (sl. 68+69).

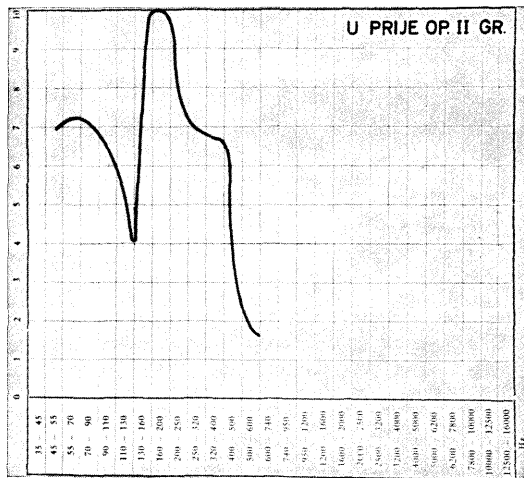
Glas »N« imade također dva karakteristična spektra. Prije operacije spektar se nalazi u području od 110 do 5000 Hz. Unutar njega smještene



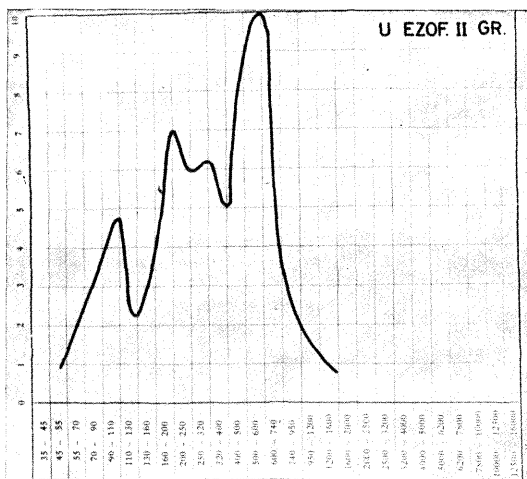
Sl. 58



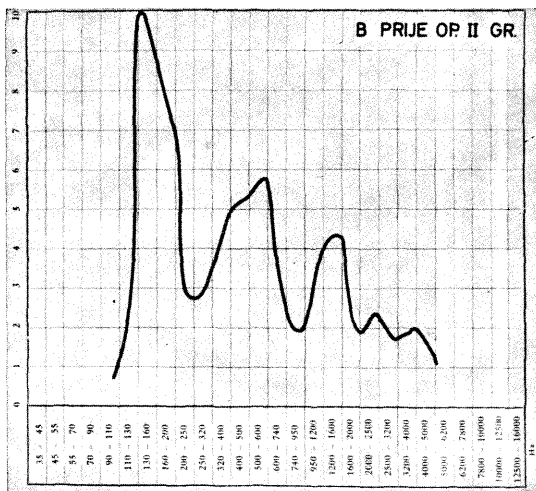
Sl. 59



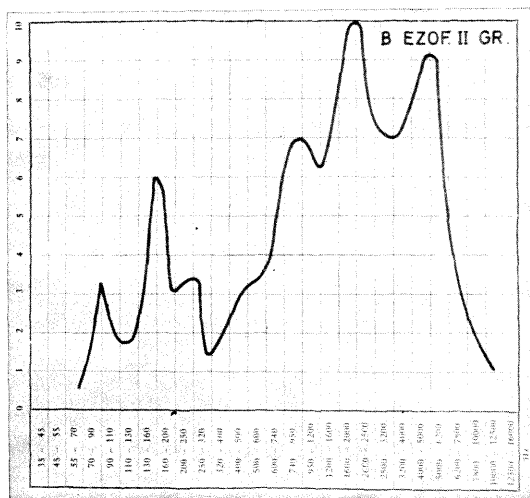
Sl. 60



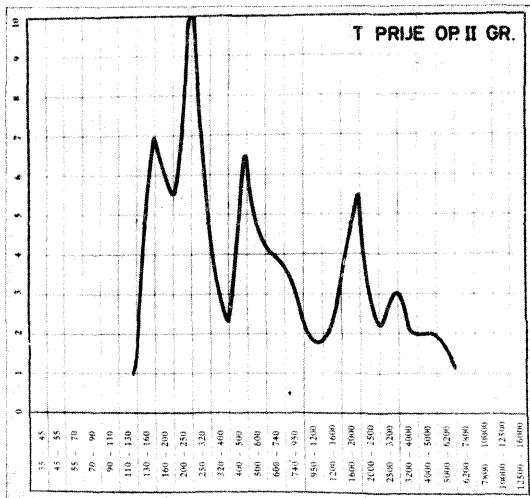
Sl. 61



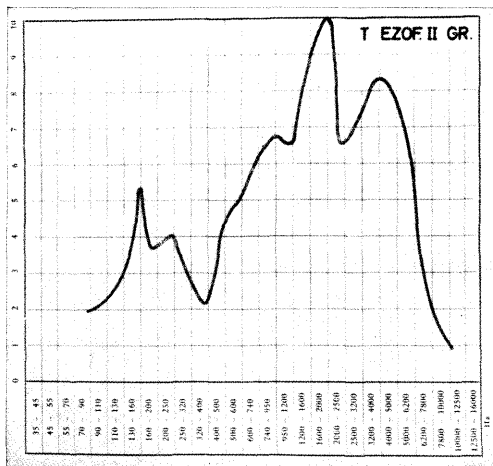
Sl. 62



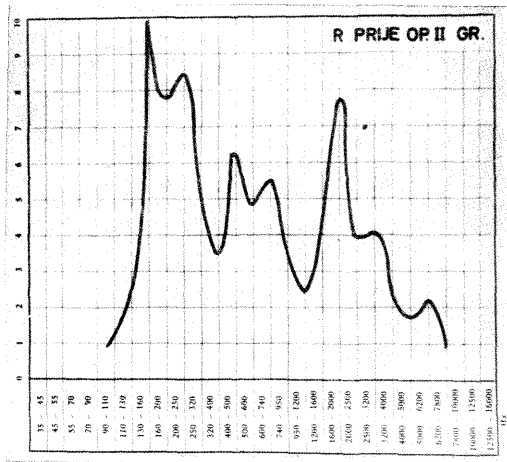
Sl. 63



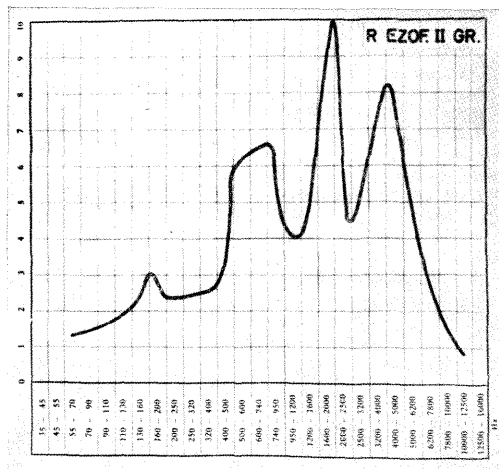
Sl. 64



Sl. 65

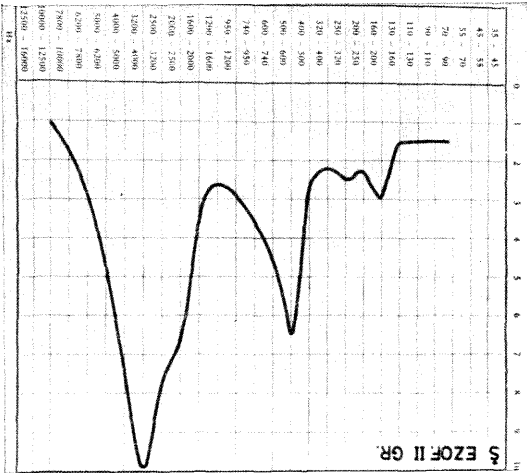


Sl. 66

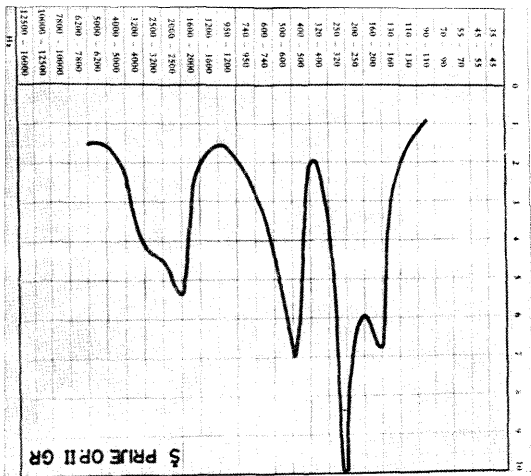


Sl. 67

SL. 69



SL. 68



maksimalne amplitude nalaze se u nižem frekventnom području, dok amplitude prema višem frekventnom području sve su slabije. Spektar ezofagealnog glasa »N« pokazuje, međutim, jednu zasebnu karakteristiku. Njegove amplitude imaju izrazitu snagu gotovo duž čitavog spektra, tj. od 160 do 6200 Hz, a maksimalna amplituda smještena je u području od 4000 do 5000 Hz (sl. 70 + 71).

Komparativna spektroskopska analiza ezofagealnih glasova obiju grupa omogućila je detaljnu spektralnu analizu jednih i drugih. To je pak dalo osnovu za bolje upoznavanje odgovornih elemenata za različitu inteligibilnost govora jedne i druge grupe.

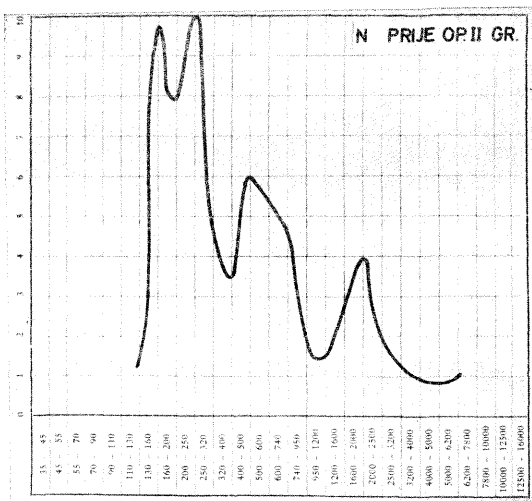
KOMPARACIJA DVIJU GRUPA EZOFAGEALNIH GLASOVA

Ezofagealni glas »A« je ponešto različit u oba slučaja. Premda oba glasa imaju kontinuirani spektar u rasponu od 45 do 3200 Hz, ipak postoji razlika u podjeli spektra. Prvi ezofagealni glas »A« imade dva karakteristična područja. Prvo područje dolazi u nižim frekvencijama, a nešto slabijim amplitudama, dok drugo dolazi u višim frekvencijama, gdje zapravo i leži područje maksimalne amplitude u zoni od 950 do 1200 Hz (sl. 72 + 73).

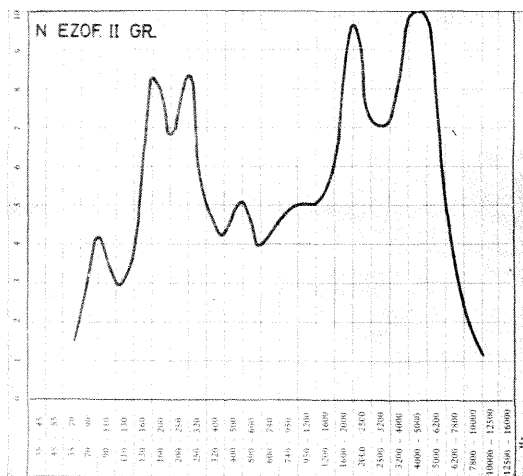
Glas »E« je karakteristično različit u oba slučaja. Kod prvog ezofagealnog glasa spektar je širi i obuhvaća područje od 45 do 6200 Hz, dok je kod drugog ezofagealnog glasa spektar znatno uži i obuhvaća područje od 55 do 2000 Hz. Prvi ezofagealni glas »E« imade tri grupe. Prva je najšira, u zoni od 55 do 320 Hz. Druga je nešto uža, u zoni od 500 do 740 Hz, ali se u njoj nalazi područje maksimalne amplitude. Treća grupa nalazi se u području frekvencija, u zoni od 2500 do 4000 Hz. Drugi ezofagealni glas »E« imade kontinuirani spektar, u kojem su gotovo sve frekvencije jednakog intenziteta, dok mu se područje maksimalne amplitude nalazi već u zoni od 70 do 90 Hz. Prema tome, područje maksimalne amplitude, koje je smješteno u najdubljem frekventnom području, njegova je osobita karakteristika (sl. 74 + 75).

Glas »I« pokazuje neznatne razlike. U oba slučaja spektar je relativno uzak. Kod prvog ezofagealnog glasa on se kreće u rasponu od 55 do 600 Hz, dok kod drugog ezofagealnog glasa taj raspon je nešto širi, a leži u zoni od 45 do 950 Hz. Prvi ezofagealni glas »I« imade spektar u kojem su sve amplitude gotovo jednake jačine. Njegova maksimala smještena je u zoni od 320 do 400 Hz. U drugom spektru ezofagealnog glasa karakteristično je da se amplitude postepeno penju od nižih frekvencija prema višima, dok se njegova maksimala nalazi u zoni od 400 do 500 Hz (sl. 76 + 77).

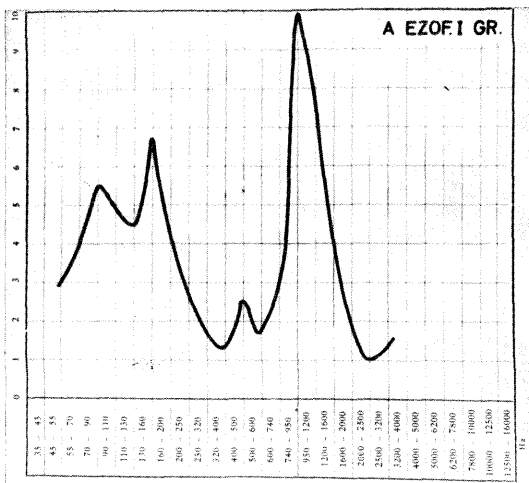
Glas »O« je potpuno identičan u svim detaljima duž čitavog spektra u oba slučaja. Raspon spektra je uglavnom isti i obuhvaća područje od



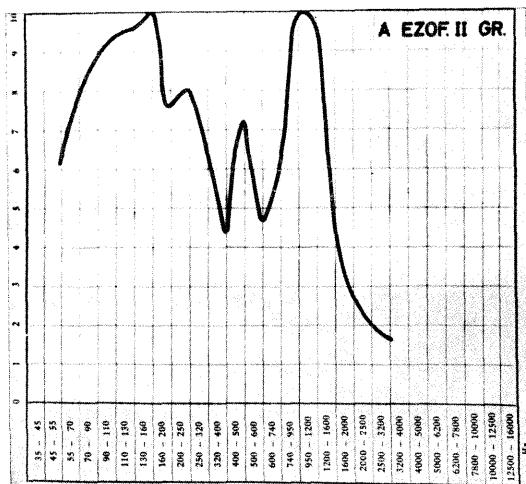
Sl. 70



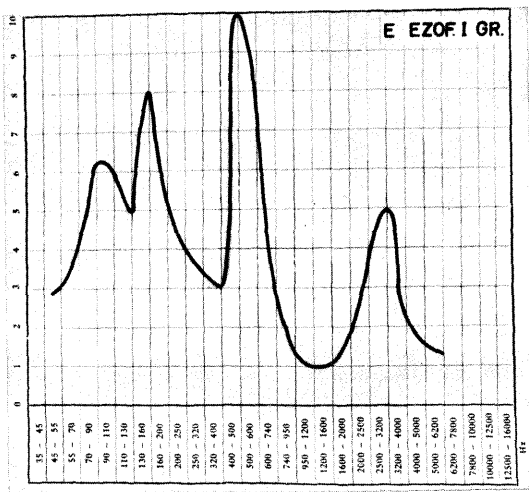
Sl. 71



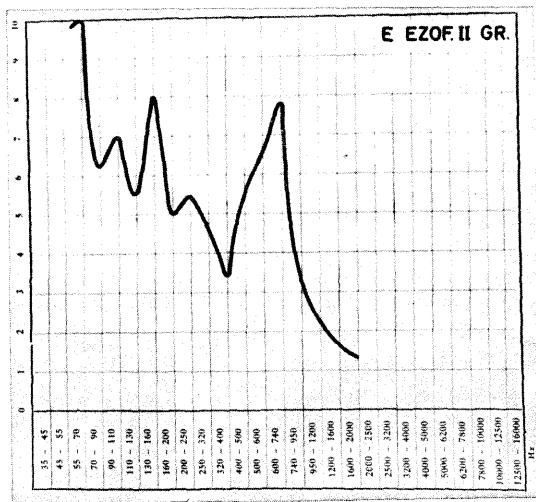
Sl. 72



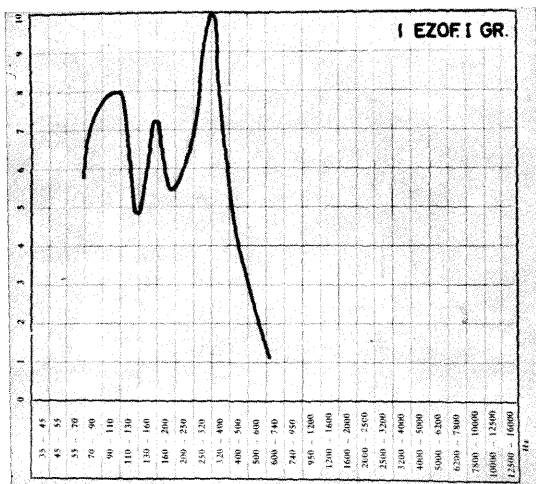
Sl. 73



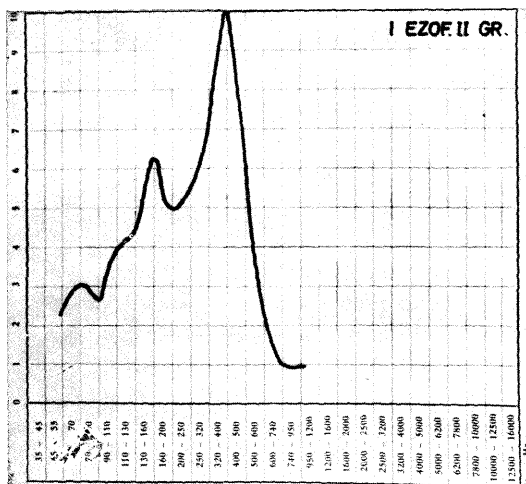
Sl. 74



Sl. 75



Sl. 76



Sl. 77

55 do 2000 Hz, a amplitude su kod oba ezofagealna glasa podjednako izražene. Grupa maksimalnih amplituda leži kod oba glasa u zoni od 500 do 950 Hz (sl. 78 + 79).

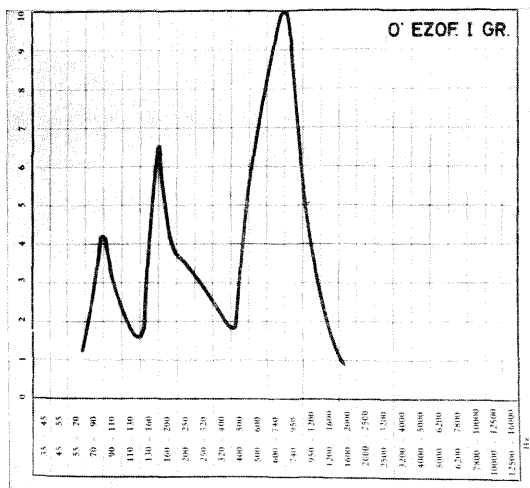
Glas »U« je također veoma sličan u oba slučaja. Njihov spektar se prostire od 45 do 1200 Hz, s jednako izraženom snagom amplituda. Njihove maksimalne amplitude leže u zoni od 400 do 500 Hz. Karakteristično je za ezofagealni glas u oba slučaja da unutar spektra ne postoje srednje ni više frekvencije (sl. 80 + 81).

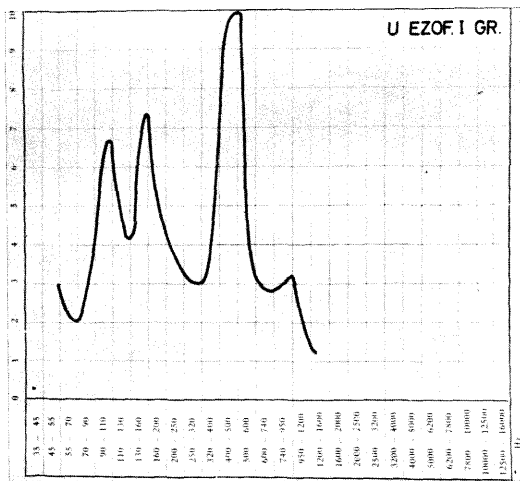
Glas »B« imade spektar koji je različit u oba slučaja. U prvom ezofagealnom glasu vidi se spektar koji se proteže od 45 do 7800 Hz. U tom spektru su značajne tri grupe. Prva je u zoni od 160 do 320 Hz, druga u zoni od 600 do 1200 Hz, dok se treća nalazi u zoni od 1600 do 3200 Hz. Maksimalne amplitude nalazimo u dva područja. Prvo područje s maksimalnim amplitudama je u zoni od 740 do 950 Hz, a drugo područje nalazi se u zoni od 1600 do 2000 Hz. Spektar drugog ezofagealnog glasa »B« pokazuje širi raspon, od 55 do 10.000 Hz. Snaga amplituda je slabije izražena u najdubljim frekvencijama, dok je veoma jaka u zoni od 740 do 6200 Hz. Njegova maksimalna amplituda nalazi se u području od 2000 do 2500 Hz (sl. 82 + 83).

Glas »T« imade također različit spektar. Kod prvog ezofagealnog glasa spektar se nalazi u rasponu od 55 do 7800 Hz. Kod drugog ezofagealnog glasa raspon je znatno veći, u području od 70 do 10.000 Hz. Amplitude su slabije izražene kod prvog ezofagealnog glasa, a njegova maksimalna amplituda leži u zoni od 740 do 950 Hz. Amplitude kod drugog ezofagealnog glasa snažnije su u zoni od 500 do 6200 Hz. Njegova maksimala nalazi se u području od 2000 do 2500 Hz (sl. 84 + 85).

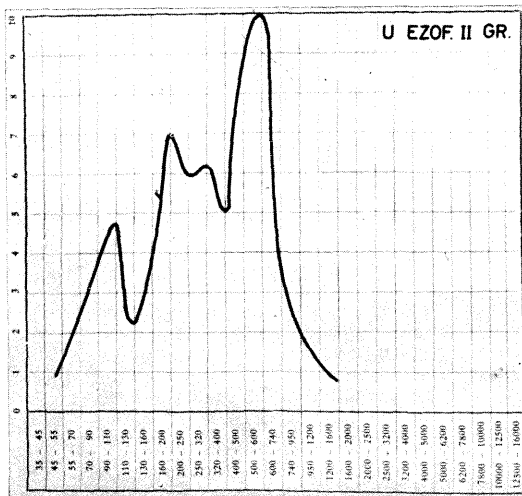
Glas »R« imade relativnih sličnosti u oba slučaja. Kod prvog ezofagealnog glasa raspon spektra je nešto uži i nalazi se u zoni od 70 do 7800 Hz. Spektar drugog ezofagealnog glasa nešto je širi i obuhvaća raspon od 70 do 10.000 Hz. Kod prvog ezofagealnog glasa unutar spektra postoji samo veoma uska zona gdje su amplitude izražene, i to kao maksimalne tih amplituda u području od 2000 do 2500 Hz. Kod drugog ezofagealnog glasa vidi se da su amplitude izraženije duž cijelog spektra, dok je njegovo područje maksimalnih amplituda mnogo šire i obuhvaća zonu od 2000 do 5000 Hz, unutar koje se nalazi maksimala u zoni od 3200 do 4000 Hz (sl. 86 + 87).

Glas »Š« je najkarakterističnije različit od svih ranijih glasova. Kod prvog ezofagealnog glasa spektar je pomaknut potpuno udesno i relativno je dosta uzak. Obuhvaća područje od 1200 do 6200 Hz. Kod drugog ezofagealnog glasa spektar je mnogo širi i obuhvaća područje od 70 do 10.000 Hz. Kod prvog ezofagealnog glasa unutar spektra postoji samo veoma uska zona gdje su amplitude izražene, i to kao maksimalne tih amplituda, u području od 2000 do 25000 Hz. Kod drugog ezofagealnog glasa vidi se da su amplitude izraženije duž cijelog spektra, a njegovo područje maksimalnih amplituda mnogo je šire i obuhvaća zonu od 2000 do 5000 Hz, unutar koje se nalazi maksimala u zoni od 3000 do 4000 Hz (sl. 88 + 89).

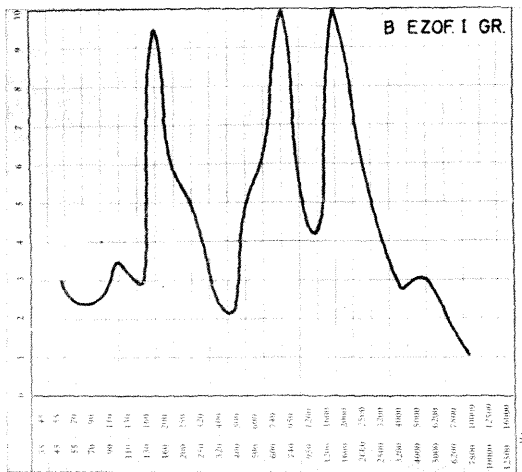




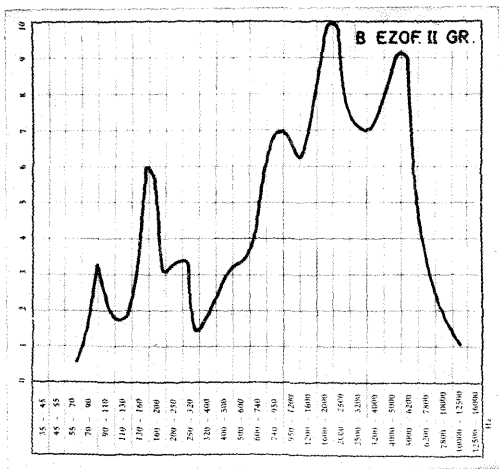
Sl. 80



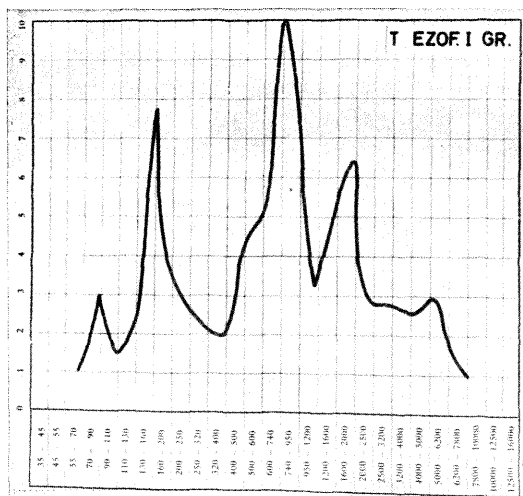
Sl. 81



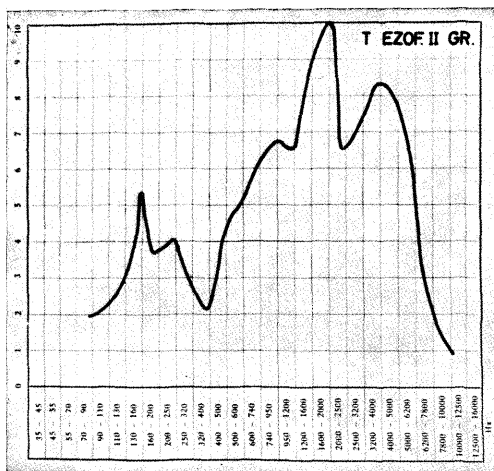
Sl. 82



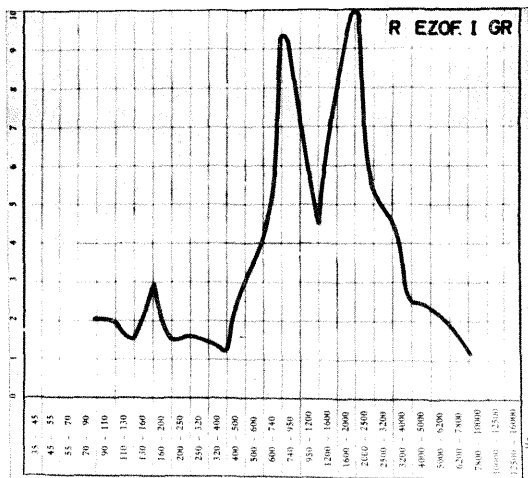
Sl. 83



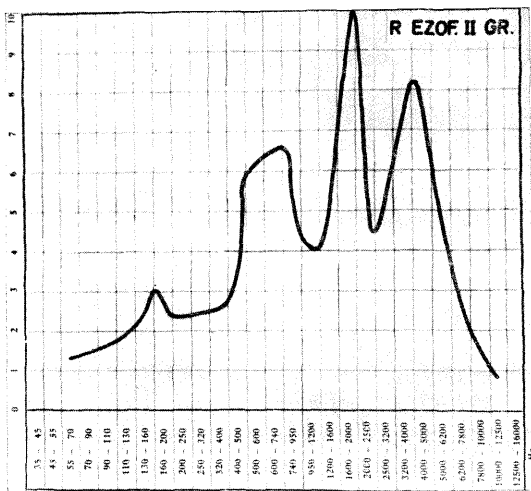
Sl. 84



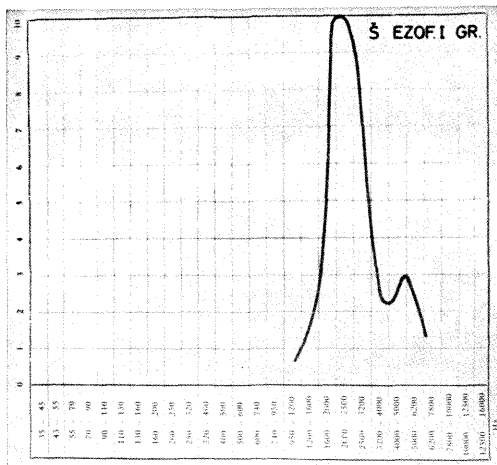
Sl. 85



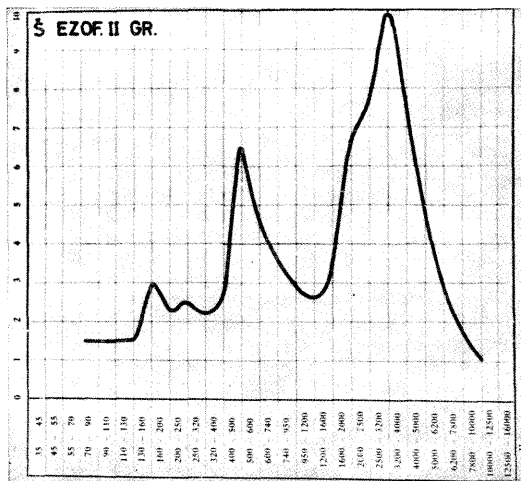
Sl. 86



Sl. 87



Sl. 88

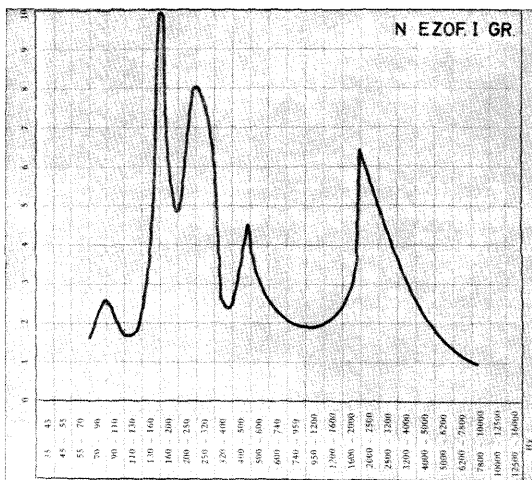


Sl. 89

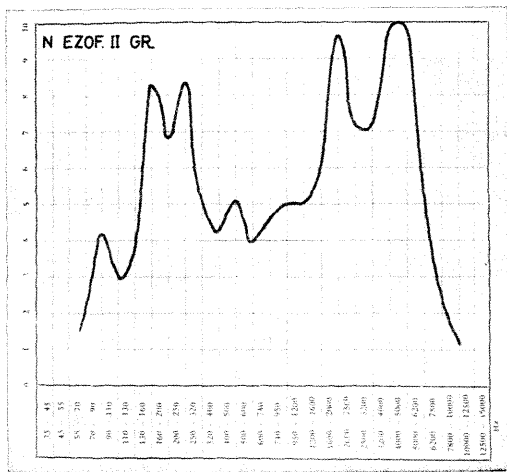
Glas »N« imade različit spektar kod oba glasa. Kod prvog ezofagealnog glasa spektar je nešto uži i obuhvaća područje od 55 do 7800 Hz. Raspon spektra kod drugog ezofagealnog glasa širi je i obuhvaća područje od 55 do 10.000 Hz. Kod prvog glasa amplitude su jače izražene u području nižih frekvencija, pa se tu nalazi i maksimalna amplituda u zoni od 160 do 200 Hz. Kod drugog ezofagealnog glasa vidi se unutar spektra da su amplitude smještene upravo u srednjim i višim frekvencijama, tj. u području od 1600 do 6000 Hz. Njegova maksimala nalazi se u zoni od 4000 do 5000 Hz (sl. 90 + 91).

Detaljna komparativna analiza dobivenih spektrograma upućuje na nekoliko važnih činjenica. Prije svega, kod normalnog kolokvijalnog glasa i govora upada u oči da zvučnost govornih elemenata i kod vokala i kod konzonanata ovisi u prvom redu o izvanredno širokom frekventnom rasponu i veoma bogatim amplitudnim varijacijama od najdubljih do najviših spektara. Ako konfrontiramo običan kolokvijalan glas s promuklim glasom, onda ćemo ustanoviti da je zapravo osnovna i bitna karakteristika promuklosti pomicanje čitave frekventne rasponne mase prema dubljim i dubokim frekvencijama, a da se pri tom uglavnom zadržava snaga amplitudnih varijacija. Doduše, poneki glasovi i kod promuklosti uglavnom zadržavaju elemente karakteristične za kolokvijalan glas. To je npr. slučaj kod vokala »I« i »U«, a od konzonanata kod »Š« i »R«. No ipak iz izloženog postaje očito da zvučnost i sonornost i vokala i konzonanata ovisi upravo o gornjim frekvencijama unutar spektra i njihovim makar minimalnim amplitudnim oscijacijama. Kod laringektomiranih bolesnika, a pogotovo kod onih s lošim ezofagealnim glasom, spektroskopska analiza dala je nekoliko veoma karakterističnih podataka. Prije svega, sasvim su drugačije spektroskopske slike vokala kao zasebne grupe prema konzonantima.

Dalje, osnovno je i bitno da laringektomirani bolesnik svojim novim mehanizmom distribucije progutanog zraka treba da oblikuje pojedine govorne elemente s više ili manje usklađenim ritmom. Ovisi samo o mogućnosti i sposobnosti laringektomiranog bolesnika da li će taj posao obavljati s više ili manje ekonomike, s više ili manje nepotrebnog rasiapanja progutanog zraka. Kako su vokali prije svega konzumenti pretežne količine snage izbacivanog zraka kod normalnog glasa iz pluća kroz rimu glotidis, a kod laringektomiranog bolesnika kroz novo adaptiranu pseudoglotičku formaciju, očito je da će kod laringektomiranog bolesnika najveći dio ionako male količine disponibilnog zraka, koji treba laringektomirani bolesnik kako bi formirao svoje govorne elemente, pojesti upravo vokali. Zbog toga kod laringektomiranog bolesnika s relativno dobrom inteligibilnošću, a tu se pretpostavlja dobra, inteligentna i ritmički adaptirana ekonomika eruktiranja, spektroskopska analiza daje rezultate koji i ne moraju jako diferirati u strogo spektroskopskom smislu od jače promuklosti. Međutim, kod laringektomirca s lošom inteligibilnošću, koji neekonomično disponira svojim progutanim zrakom, glavni kvantitet toga ionako malog kapaciteta konzumirat će vokali.



Sl. 90



Sl. 91

Upravo radi te činjenice spektrogrami loših ezofagealnih govornih elemenata pokazuju kod vokala zapravo zanimljive činjenice.

Vokal »A« kao naj snažniji vokal, manifestira uz pomak u dublji raspon, izvanredno snažne amplitudne vrijednosti, koje najbolje ukazuju koliko je skupa cijena tih amplitudnih varijacija.

To isto vrijedi i za vokal »O«, koji je samo nešto slabiji u svom sastavu od vokala »A«.

Kod vokala »E« i »I«, koji su znatno slabiji prema ranijim vokalima, naprijed spomenute karakteristike važe samo u nešto blažoj mjeri.

Vokal »U« kao potpuno mukao vokal, koji i inače spada među najslabije vokale, po svojoj snazi se približava konzonantima. Razlike su naravno veoma malene, pa on i kod loših ezofagealnih glasova uglavnom zadržava iste karakteristike, samo sa slabijim amplitudnim varijacijama.

Kod konzonanata situacija je sasvim drugačija bez obzira na činjenicu da njihovo oblikovanje tek posredno dirigira glotida i da o njihovoj inteligibilnosti treba voditi računa pri razmatranju sinergičnog mehanizma oro-buko-faringealnih mišićnih grupa. Činjenica je da je za njihovu formaciju i uklapanje u govorne elemente predodređeno, u usporedbi prema vokalima, vrlo malo snage pritiska.

Upravo zbog te činjenice ne bi smjelo biti razloga, barem teoretskog, da laringektomirani bolesnik ne bi mogao više-manje besprijekorno formirati, ako ne sve, a ono najveći dio konzonanata. Spektroskopska analiza većine konzonanata to i potvrđuje. I »N« i »B« pokazuju vrlo male razlike, dok naprotiv »Š« i »R« jedva da pokazuju neke razlike.

Što ipak kod lošeg ezofagealnog glasa inteligibilnost opada, pa i ispada, razlog ne leži u nemogućnosti da laringektomirani bolesnik svojom oro-buko-faringealnom muskulaturom sinergički formira te konzonante, nego u činjenici da mu vokali odmah kod prve govorne jedinice konzumiraju sav progutani zrak zbog neadekvatne i neadaptirane eruktacije. Razumljivo da nakon toga slijedi već odavno dobro poznata slika da čovjek otvori usta, izeruktira sav kvantum zraka, a onda slijedi bezpomoćno i nijemo žongliranje pomoću oro-buko-faringealne muskulature.

ZAKLJUČAK

1) Spektroskopska analiza pokazala je određenu zakonitost frekventno-amplitudnih varijacija kod običnog glasa, kod promuklog glasa, kod relativno dobrog ezofagealnog glasa kao i kod lošeg ezofagealnog glasa.

2) Inteligibilnost ezofagealnog glasa ovisi o činjenici da se, doduše, i kod promuklog glasa i kod ezofagealnog glasa radi o šumovima čije frekventno-amplitudne sekvence uslijed djelovanja voljnog mehanizma više ili manje oponašaju, odnosno aupstituiraju frekventno-amplitudne sekvence normalnog glasa. Loša inteligibilnost ezofagealnog glasa nije toliko uvjetovana pomicanjem čitave frekventno-amplitudne mase u dublje područje, koliko gubitkom raspoloživog zraka dovoljnog za oblikovanje pojedinog glasa.

3) Vokali kao nosioci najvećeg dijela snage, a prema tome i kao potrošači najvećeg dijela zraka, glavni su razlog da ljudi s neusklađenim mehanizmom gutanja i eruktacije postižu minimalnu inteligibilnost. Ta inteligibilnost ne ovisi samo o frekvencijsko-amplitudnoj slici pojedinih govornih elemenata nego prije svega o tome u kojoj mjeri je frekvencijsko-amplitudna slika tog govornog elementa svojim sekvencama i informacijama više ili manje slična ideogramima apercipcionih centara, gdje se treba obaviti dekodiranje, a u nekim slučajevima dešifriranje.

4) Očito je iz gornjeg izlaganja da će i inteligibilnost prema tome ovisiti u prvom redu o tome koliko i u kojoj mjeri može pojedini laringektomirani bolesnik da usvoji fini mehanizam ekonomične i racionalne eruktacije dovoljno nagutanog zraka.

5) Spektroskopska analiza govornih elemenata ukazala je na važnost pravilne ocjene pojedinosti koje su važne u evaluiranju komunikativne vrijednosti ezofagealnog govora.

LITERATURA

1. *Banjanin, B.*: Lij. vjes., 48:779, 1926.
2. *Bauk, V.*: Lij. vjes., 85:729, 1963.
3. *Bauk, V.*: XII International speech and Voice Therapy Conferency, Padua 1962.
4. *Bellussi, G.*: Atti Clin. ORL di Torino, 1948-1949.
5. *Cojazzi, L.*: Atti del laboratorio di Fonetica, 41, vol. I., Padova 1949.
6. *Damasteo, H.*: Oesophageal speech after laryngectomy, Groningen 1958.
7. *Hribar, Z.*: Zbornik radova 11. skupa otolaringologa Jugoslavije, 217, 1949.
8. *Matković, V.*: Entropija hrvatskoga jezika, Zagreb 1957.
9. *Negus, V. E.*: The Mechanismus of the larynx, W. M. Heineman, 1929.
10. *Perello, J.*: Il problema de la voz en los laringectomizados, Acto ORL Ibero Americ., 1951.
11. *Segre, R.*: Tratado de foniatría, Buenos Aires 1949.
12. *Tarneaud, J.*: Traitépratique de phonologie et de phoniatrie, Maloigne, Paris 1941.

*Otorinolaringološka klinika
Medicinskog fakulteta - Zagreb
Predstojnik: Akademik Branimir Gušić*

RHINITIS ALLERGICA I INFEKCIJA NOSNE
SLUZNICE

PREDGOVOR

U rinološkoj literaturi vlada gotovo jednoglasno uvjerenje da je alergična sluznica nosa pogodno tlo za razvitak infekcije. Pokušamo li, međutim, naći i dokumentaciju za takvo stanovište suočit ćemo se s činjenicom da za nj nema egzaktnih dokaza i da se ono osniva na pretpostavkama ili spekulativnim postupcima među kojima je najčešće tumačenje statističkih podataka o istodobnom postojanju alergije i infekcije na sluznici nosa i sinusa pri čemu se uzima alergiju kao primarnu, a infekciju kao sekundarnu. Uvjerenje o sklonosti alergičnog terena u nosu prema infekciji steklo je među rinolozima poziciju znanstveno utvrđene istine i ušlo čak u temeljne udžbenike ove struke. Kako, međutim, vlastito kliničko iskustvo nije moglo potvrditi ovakvo stanovište, odlučili smo pronaći egzaktniji odgovor na ovo pitanje. Budući da u tu svrhu nije dovoljno istražiti floru nosa kod alergičnih bolesnika i usporediti je s florom nosa normalnih osoba, jer se takvom metodom ne može izbjeći prigovoru da ne daje odgovor na pitanje: što je primarno, a što sekundarno – infekcija ili alergija, neophodno je raspolagati čistom alergijom i istražiti njezino ponašanje prema infekciji. To se može postići jedino artificijalnim izazivanjem alergije u eksperimentu i nakon unošenja infekcije na alergizirani teren kompariranjem njezina razvitka s kontrolnom grupom. Etički razlozi nam, dakako, ne dopuštaju takvo eksperimentiranje na ljudima i zato ćemo se poslužiti kontrolnim životinjama.

Zadatak je, dakle, ove rasprave da u eksperimentima na životinjama ispita uzajamni odnos alergije i infekcije nosne sluznice i da dobijene rezultate protumači u skladu s dosadašnjim dostignućima u rinologiji i alergologiji.

U V O D

O tezi koja čini osnovu ove rasprave nećemo u rinološkoj literaturi naći, sve do najnovijeg vremena, radova koji bi nam dozvolili da govorimo o historijatu problema u pravom smislu te riječi. U isto ćemo vrijeme u alergološkoj literaturi naći obilje podataka općenito o odnosu infekcije i alergije, i to već od prvih dana postojanja ove medicinske discipline. Pokušamo li iz tog obilja izvući one bitne činjenice koje bi mogle poslužiti kao pristup našem osnovnom problemu, uočiti ćemo značajan detalj, da se alergologija kao posebni nazor u medicini razvila upravo u vezi s ponovnim susretom jednog organizma s infekcijom iste vrste.

Premda je otada prošlo već preko pola stoljeća i kroz to vrijeme su ispisane čitave biblioteke, još uvijek se nismo približili definitivnom rješenju u spletu mnogih suprotnih činjenica. Istina je da su mnoge pojednosti nedvoumno potvrđene i na taj način postale opće dobro medicinskih znanosti, naročito imunologije, patofiziologije, infektologije i rinologije, ali još uvijek nije uspjelo skupljeno znanje ugraditi u jedan sistem koji bi zadobio opće priznanje. Evo jednog vlastitog pokušaja da se šarenilo u tematici, stavovima i načinu prilazjenja problemu odnosa alergije i infekcije klasificira u obliku tema i tako svede pod barem donekle prihvatljive zajedničke nazivnike:

1. alergološko tumačenje tuberkuloznog procesa i Kochova fenomena
2. alergološko tumačenje kliničkog toka akutnih infektivnih bolesti
3. alergija kao odraz procesa imunizacije
4. infekcija kao provokativni faktor nebakterijalne alergije
5. prava bakterijalna alergija
6. fokalna zbivanja
7. inficirana alergija ili čista alergija kao predispozicija za razvitak infekcije
8. uzajamni odnos alergijske astme i infekcije
9. pokušaj terapije alergijskih stanja provociranom infekcijom.

Ovaj shematski pokušaj klasifikacije ne pretendira dakako na sveobuhvatnost, ali dovoljno ilustrira kakve još teškoće treba prebroditi do konačnog cilja. Mi ćemo se gornjom shemom poslužiti kao polaznom bazom u izlaganju dosadašnjih dostignuća. Većina gore navedenih aspekata ne odnosi se posebno na respiratornu sluznicu. Mi ćemo u toku daljih razlaganja pokušati utvrditi koji je od njih najbliži našem iskustvu i rezultatima naših eksperimenata i tako ući u srž problema.

1. Robert Koch je 1891. godine zapazio da zamorčad koja je bila inficirana bacilima tuberkuloze, 4–6 tjedana nakon infekcije reagira na ponovnu takvu injekciju posve drugačije (27). Dok nakon prve injekcije nije bilo nikakve lokalne reakcije, nakon ponovne injekcije se već sutra-

dan pojavila na tom mjestu modra oteklina koja je u daljem toku nekrotizirala i konačno zarasla. Reilly je histološkom pretragom ovog Kochova fenomena na koži 24 sata nakon inokulacije našao piknotičke polinukleare, eritrocite i promjene na kapilarama uslijed bubrenja njihova endotela (49). Slijedećih dana je pronašao makrocite, zatim veći broj leukocita i utvrdio da se lumen kapilara ispunjava deskvimiranim stanicama endotela. Do nekroze je prema tome došlo u prvom redu zbog promjena na krvnim žilama. Ovaj klasični eksperiment, poznat danas pod imenom Kochov fenomen, pokazuje da je zamorče, koje je senzibilizirano na bacil tuberkuloze, pri ponovnom njegovu unošenju u organizam reagiralo na taj način da ga je odstranilo nekrozom tkiva i tako spriječilo njegovo štetno djelovanje.

Sa gledišta naše teze Kochov fenomen je prvi jasni podatak u alergološkoj nauci koji pokazuje da alergizirana podloga ne mora biti sklonija infekciji od nealergizirane.

Jedan od osnivača alergologije kao nauke, Pirquet, koji je toj nauci dao i ime, opisao je različito reagiranje ljudske kože na kontakt s tuberkulinom. Kod osoba koje ranije nisu bile inficirane tuberkulozom, stavljanje kapi tuberkulina na skarificiranu kožu nije izazvalo nikakve reakcije za razliku od onih osoba koje su ranije bile inficirane Kochovim bacilom. Kod potonjih se pojavila lokalna reakcija u obliku otoka sa crvenilom. Ovaj pokus, poznat u literaturi pod imenom Pirquetove reakcije, potaknuo je autora da za ovako izmijenjenu reaktivnost organizma predloži naziv alergija, a supstancije koje izazivaju alergijsko stanje – alergeni. Tako je pojam alergije ušao u medicinsku nauku. Pirquetova reakcija se u svojoj biti podudara s Kochovim fenomenom. I nju treba shvatiti kao obranu organizma koji se u svom ponovnom kontaktu s istim alergenom bori za njegovu eliminaciju.

Suštinu Kochova fenomena i Pirquetove reakcije treba tražiti u njihovoj funkcionalnoj svrsi, a ne u morfološkim pojavama. Morfološko gledanje govorilo bi da je nekroza što se javlja na mjestu ponovnog ubrizgavanja u oba fenomena štetna po organizam i u suprotnosti sa stanjem imuniteta. Ali ako ne gledamo statički nego na konačni efekt, a taj je eliminacija štetnog antigena zajedno s nekrotiziranim tkivom, ocijenit ćemo opisanu reakciju organizma kao obrambenu. Žrtvujući dio svog vlastitog tkiva nekrozom i teškim oštećenjem koje ponekad može završiti i letalno, organizam se u stvari brani.

I klinička iskustva na bolesnicima pokazuju da organizam koji je ranije inficiran tuberkulozom reagira drugačije, alergijski, na ponovni susret s Kochovim bacilom. K. Ranke je u svojoj poznatoj podjeli tuberkuloze na tri stadija pridao veliko značenje alergiji. Prema njemu je bitna razlika između I i II stadija jaka preosjetljivost alergijske prirode u II stadiju, koja u III stadiju postepeno opada.

Vrlo jasni dokaz alergijskog stanja ljudskog organizma nakon prvog kontakta s tuberkulozom je BCG vakcinacija izvršena modificiranim bacilom tuberkuloze bovinog tipa. Takvo stanje javlja se otprilike nakon dva mjeseca, a traje nekoliko godina.

Zanimljiv je eksperimentalni nalaz M. Đurišića i P. Neškovića (11), da alergijsko stanje prema Kochovu bacilu može nastati i bez vidljivih patomorfoloških promjena. Oni su inficirali zamorce bacilima, ali su ih istodobno podvrgli terapiji streptomycinom. Konstatirali su da je liječena zamorčad postala jednako alergična kao i neliječena, premda se na njima nije moglo pronaći nikakvih patoloških promjena.

Na pitanje, da li su Kochov fenomen i Pirquetova reakcija u svojoj suštini alergijske pojave, tj. da li im je osnova reakcija antigen – antitijelo, mišljenja još nisu ujednačena. Pirquetovu mišljenju, da promijenjenu reakciju kod tuberkuloze treba shvatiti kao alergijsku, dugo se vremena suprotstavljao prigovor da se tuberkulozna alergija ne može pasivno prenijeti, što bi pod pretpostavkom da u krvi postoje antitijela trebalo uspjeti. Istina je da je teško prenijeti tuberkulinsku preosjetljivost jer su antitijela kod alergije uglavnom vezana uz stanična tkiva, ali je Kourilskom ipak uspjelo da tuberkulinsku preosjetljivost prenese s pomoću staničnog eksudata senzibiliziranog zamorčeta na zdravo zamorče. Drugi prigovor koji se postavljao ukazivao je na činjenicu da tuberkulinska reakcija nema izgled tipične urtike koja nastupa odmah nakon aplikacije, nego se javlja dosta kasno, i to u formi upalne reakcije. Ni ovaj prigovor danas više ne predstavlja argument kojim bi se mogla pobiti alergijska priroda Pirquetove reakcije, jer je činjenica da i mnoge druge alergijske reakcije ne nastupaju odmah nego nakon dužeg intervala, obično nakon 1–2 dana, a tada često ni one nemaju formu urtike.

O suštini opisanih reakcija postoje među autorima velika razilaženja s imunobiološkog aspekta. Dok jedni misle da te reakcije treba dijeliti u dvije zasebne grupe, alergijsku i imunitetnu, drugi smatraju da su nedjeljive jer im je bit zajednička: reakcija antigen – antitijelo. Mi bismo se priključili ovom posljednjem koje zastupa Doerr, a kod nas Kogoj (28), Spuzić i Danilović (58), te bismo zaključili ovako: za razliku od imuniteta, gdje ne dolazi do oštećenja organizma, kod alergijske reakcije organizam se odupire infekciji uz oštećenje organizma i parcijalnim žrtvovanjem tkiva u kojem se odigrava reakcija. Teoretske osnove za ovaj stav iznesene su u odjeljku: Alergija kao odraz procesa imunizacije.

Sa stanovišta naše teme ovdje je važno naglasiti da i Kochov fenomen i Pirquetova reakcija pokazuju da alergizirani organizam pruža jači otpor prema infekciji od nesenzibiliziranog.

2. I kod akutnih infektivnih bolesti često puta je neke simptome moguće objasniti jedino alergijskom reakcijom. Pirquet je 2. travnja 1903. saopćio Bečkoj akademiji nauka u svom djelu »Prilog teoriji infekcioznih bolesti« svoje stanovište da simptome infekcioznih bolesti treba shvatiti kao znak sukoba između antigena i antitijela. Antigeni su kod toga bakterije, a antitijela humoralni elementi koji nastaju za vrijeme inkubacije. Naročito je podvukao činjenicu da serumska bolest ima mnogo zajedničkih simptoma s raznim zaraznim bolestima: osip, febrilno stanje, bol u zglobovima, povećanje žlijezda i slezene. Pirquetova je postavka naišla

kod nekih autora na takvo oduševljenje da su čak počeli negirati ulogu bakterijskih toksina i čitavu simptomatologiju tumačiti kao alergijsku pojavu.

U novije vrijeme je i E. Letterer stao na stanovište da u svim infektivnim bolestima postoji i alergijska komponenta. Prema njemu u početku dominira alergija, a kasnije imunitet. De Lavergne smatra da je čitav tok abdominalnog tifusa odraz alergije, a Szontagh tvrdi isto za šarlah (34).

Kod nas je viliki pristaša Pirqueta bio Mayerhofer (38), kojemu je alergija bila »opća ideja vodilja u medicini i biologiji«. On je u skladu s Pirquetovom teorijom razradio teoriju prema kojoj se tri perioda kod infektivnih bolesti imaju ovako protumačiti: prvi period, inkubacija, odgovara senzibilizaciji, tj. stvaranju antitijela u organizmu. U drugom periodu, periodu manifestnih kliničkih simptoma bolesti, kao što su egzantem i povišena temperatura, zbiva se reakcija antigen – antitijelo. Slijedi treći period u kojem prestaju klinički simptomi; to je period imuniteta kada se u krvi nalazi velika količina slobodnih antitijela. Zahvaljujući njima mikroorganizmi su uništeni. Mayerhofer i njegovi istomišljenici naročito su obradili tuberkulozu s tog aspekta zatim šarlah i abdominalni tifus. Premda se ne možemo u cijelosti složiti s takvim ekskluzivnim stavom u medicini koji sva imunološka zbivanja svodi pod zajednički naziv alergije, a ujedno donekle zanemaruje djelovanje toksičkih materija, ipak moramo priznati da mnoge simptome i tok zaraznih bolesti možemo rastumačiti jedino alergijskom reakcijom antigen – antitijelo. Dalje ulazanje u ovaj problem premašilo bi okvir naše teme. Ovo što je izneseno treba samo da s još jednog aspekta osvjetli obrambeni karakter alergije i da nas uvede u slijedeći problem.

3. Premda nekroza, koja se javlja i kod Kochova fenomena i kod Arthusova fenomena, u morfološkom i statičkom pogledu izgleda kao ozljeda, ne može se poreći opći obrambeni značaj tih reakcija koje imaju za konačni cilj eliminaciju najezde mikroba na organizam, pa makar se tu radilo i o žrtvovanju živog dijela putem nekroze. S obzirom na to da su ove zaštitne reakcije praćene nekrozom, dakle teškim oštećenjima, mnogi smatraju da je alergija suprotna imunitetu. Čak je i autoritet kao što je Arthus u svojoj radnji »Od anafilaksije k imunitetu« (1) na temelju izvršenih eksperimenata najprije ustvrdio da se imunitet nadovezuje na anafilaktičko stanje, a kasnije ga je u tome pokolebala činjenica da se stanje imuniteta na zmijski otrov ne nadovezuje na anafilaksiju, pa je negirao srodnost imuniteta i alergije. Međutim, mnogi kasniji radovi potkrijepili su mišljenje da su alergija i imunitet srodne pojave, dapače da su to samo različite manifestacije jednog te istog stanja.

Dujardin i Decamps (9) postepeno su ubrizgavali pokusnim životinjama konjski serum i utvrdili da se najprije javlja anafilaksija, zatim da je ona postepeno slabila i da se konačno javio imunitet na konjski serum. Ali kada su poslije intervala od dva mjeseca ponovno pokusnim životinjama injicirali konjski serum, ustanovili su umjesto imuniteta alergijsku reakciju.

Metalnikov je tvrdio da su anafilaksija i imunitet stanja koja prelaze jedno u drugo, ali da mogu istovremeno postojati i jedno pored drugoga (40).

Bordet je također smatrao da između anafilaksije i imuniteta nema suprotnosti, nego da je anafilaksija samo jedan oblik imuniteta (3).

Naši autori V. Spuzić i I. Spuzić smatraju latentnu supkliničku alergiju izrazom obrambenog stanja i jednom vrstom imuniteta (59).

Banić je čak ustvrdio da je imunitet jedan oblik alergije, jer pojmom alergija treba obuhvatiti ne samo preosjetljivost nego i smanjenu osjetljivost. Polazeći od ove premise, on alergiju dijeli na alergiju preosjetljivosti i imunitetnu alergiju (2).

Ni F. Kogoj nije daleko od takvog gledišta kad smatra imunitet stanjem koje je izraslo iz alergijskih zbivanja i koje je jedan od mogućih rezultata takvih zbivanja (28).

Cooke i Bernard su dobili specifičnom senzibilizacijom iz krvi bolesnikā koji su se liječili od peludne hujavice povećanu količinu antitijela u serumu (4), a to bi govorilo u prilog mišljenju da se kod alergičnih bolesnika javlja čak i pravi imunitet prema alergenu.

O kojoj je vrsti antitijela riječ, utvrdili su Van Dishoeck i H. Ollslagers (64). Promatrajući pojavljivanje slobodnih antitijela kod alergičara na pelud, koji su tom istom peludi desenzibilizirani, opazili su da se kod manjih doza javljaju reagini, a kod većih doza blokirajuća antitijela.

Spuzić i Danilović su mišljenja da je latentna alergija u svojoj biti obrambena reakcija organizma i da vezivanje alergena za antitijela na tkivnim stanicama pridonosi održavanju stabilnosti unutarnje sredine (58). Prema njima je alergija obrambena reakcija samo u slučaju kad se reakcija antigen – antitijelo odigrava između manjih količina antitijela i antigena, ali ako dođe do reakcije između većih količina, onda se javlja teža slika alergije, koju već treba smatrati patološkim stanjem.

Durišić je smatrao da i kod alergije i kod imuniteta djeluju jedna te ista antitijela, samo što su ona kod alergije vezana uz stanice, a kod imuniteta se nalaze slobodna u krvi (10).

Wiener je iznio (69) shematski prikaz raznih imunobioloških stanja u organizmu objašnjavajući ih količinom i vrstom antitijela i pokušao je ovako rezimirati: vrsta stanja ovisi o tome da li dominiraju alergijska antitijela (reagini) ili imuna antitijela (blokirajuća antitijela). Prema tome u normalnom stanju u organizmu nema specifičnih antitijela. U alergijskom stanju je za stanice vezana velika količina reagina, a blokirajućih antitijela u krvi nema ili ih ima vrlo malo. Hiposenzibilizacija je stanje organizma kada se pod utjecajem specifične desenzibilizacije u krvi povećava količina blokirajućih antitijela, pa bi prema tome ovo stanje predstavljalo prijelaz iz alergije u imunitet. Imunitet se odražava u krvi pojavom velike količine slobodnih blokirajućih antitijela. Desenzibilizacija po tzv. brzom postupku (velikim dozama antigena) dovodi do normalnog stanja organizma na taj način da neutralizira reagine i tako organizam ostaje bez vezanih antitijela.

U pitanju srodnosti između imuniteta i alergije mi se priklanjamo mišljenju Kogoja da su obje reakcije u suštini bazirane na reakciji antigen – antitijelo (28). Njihov osnovni smisao je obrambenog karkatera, samo što kod prve ne dolazi do oštećenja tkiva, a kod druge se organizam brani na drastičniji način, koji je vezan uz oštećenje organizma. Da li objašnjenje za takvo različito reagiranje treba tražiti u količini antigena i antitijela ili u mediju gdje se reakcija odigrava – celularna membrana ili tkivna tekućina – pitanje je koje još nema definitivno potvrđeni odgovor.

Iz gornjeg razmatranja ne proizlazi da bismo opisane pojave smjeli podijeliti na korisne i na štetne po organizam, jer bi nas takvo simplificiranje moglo odvesti do krivih zaključaka. Svakog pojedinog bolesnika treba promatrati za sebe i pri zaključivanju uzimati u obzir sve one endogene i egzogene faktore koji se svojom interferencijom odražavaju na kvaliteti, kvantiteti i dinamici zbivanja.

4. Razmatrajući ulogu infekcije u nastanku alergijskih manifestacija zaustavit ćemo se na zanimljivoj činjenici, koju je potvrdilo kliničko iskustvo mnogih autora, da alergijske atake kod nebakterijske alergije često nastupaju nakon akutnih respiratornih infekcija. Tako npr. bolesnici preosjetljivi na kućnu prašinu dobivaju novu seriju ataka bronhalne astme ili alergijskog rinitisa nakon banalne gripe ili bronhitisa. Nema sumnje da pored stalne prisutnosti obilja alergena i predispozicije organizma, veliko značenje u nastajanju alergijskih pojava ima i narušavanje prirodnih brana koje sprečavaju prodor alergena u organizam. Sigurno je da je infekcija patogenim mikroorganizmima jedan od najdrastičnijih inzulata prirodne obrane. Ne samo mikroorganizmi nego i njihovi toksini i ostali produkti često oštećuju obrambene barijere kao što su sluznica i koža, pa tako omogućuju prodor štetnih materija u dišni put, crijeva, konjunktive itd. Razumljivo je da ovakva oštećenja ne otvaraju put u organizam samo bakterijskim alergenima već su i nebakterijskim širom otvorena ulazna vrata. Upravo zbog toga imamo tako često u anamnezi naših bolesnika podatak da je do alergijskih pojava došlo nakon neke infekcije ili inflamatorne pojave. Naročito ilustrativni primjeri, gdje infekcija igra ulogu provokatora ili favorizirajućeg faktora u nastajanju alergijskih reakcija, opisani su u odjeljku o uzajamnom odnosu bronhalne astme i infekcije. Uloga infekcije u postanku astme naročito je evidentna kod onih alergičara gdje su alergološki testovi negativni na bakterije, a pozitivni na neke druge alergene. Ovakvi astmatičari dobivaju bronhalne atake samo kod respiratorne infekcije, najčešće nakon bronhitisa, a inače nemaju napade čak ni u prisutnosti većih količina uzročnog alergena. Budući da je uzajamnom odnosu bronhalne astme i infekcije posvećen posebni odjeljak ove radnje, ovdje se na tom pitanju nećemo dalje zadržavati, nego ćemo samo iznijeti dva bolesnika V. Spužića koji se teško daju objasniti drugačije negoli ulogom infekcije (58).

Jedan je bolesnik studentica, inače nasljedno disponirana alergiji (otac astmatičar), koja se tek nakon preboljele bronhopneumonije senzibilizirala

rala na alergene kućne prašine, premda im je i prije toga bila izložena u toku čitavog života. Drugi je bolesnik pekar, koji je 14 godina radio u pekari, ali je prvi napad astme dobio tek nakon preboljele krupozne pneumonije. Mi ne možemo poreći da je u oba slučaja došlo do senzibilizacije možda i prije infekcije, no i u tom slučaju je infekcija odigrala provokatorsku ulogu i latentnu alergiju dovela u manifestno stanje.

Danićević nalazi dva moguća objašnjenja za takvu ulogu infekcije: infekcija svojim lezijama sluznice »otvara vrata«
alergenima ili lezijama struktura sluznice stvara šok-tkivo (5). Zanimljivo je mišljenje Z. Krajine da infekcija može provocirati i nealergijski vazomotorni rinitisa (30). Slučajeve u praksi, inače ne baš rijetke, kad početak vazomotornog rinitisa nastupa nakon preboljele infekcije, naročito gripe, a pri tome ne nalazimo niti bakterije na sluznici nosa niti alergološke testove pozitivne na bakterije, on tumači lokalnom perturbacijom vegetativnog sistema kao posljedicom infekcije, naročito virusne, koja se odražava na tkivnim elementima sluznice u smislu poremećenog metabolizma i nervne iritacije.

J. Ljaljević, V. Šuvaković i S. Banković iznijeli su na Drugom kongresu alergologa Jugoslavije 1965. svoje iskustvo sa 60 bolesnika s akutnim infektivnim hepatitisom. Detaljnim alergološkim ispitivanjem oni su konstatairali da ovi bolesnici češće obolijevaju od alergijskih manifestacija nego kontrolna grupa. Oni to dovode u vezu s većom koncentracijom alergena iz hrane zbog hiperproteinske dijeta, ali i sa znatnim povećanjem proteinskih rezervi gama-globulina, dakle, posljedicom infektivnog agensa.

Mnogi autori smatraju da kod raznih infektivnih bolesti ne predstavljaju alergene samo mikrobi i njihovi produkti, nego da zbog njihova djelovanja dolazi u organizmu do stvaranja endoalergena. Radosavljević ove endoalergene naziva sekundarnima za razliku od alergije na mikrobe, koje naziva primarnim alergenima. U skladu s time on smatra da je malarički nastup izraz preosjetljivosti malaričnog organizma na bjelančevine koje nastaju raspadanjem eritrocita.

Nadalje, L. Ristić također pripisuje alergijske pojave, urtikariju, astmu itd. senzibilizaciji na endoalergene koji su nastali pod utjecajem amebe histolitike, a ne senzibilizaciji na samu amebu (50).

Schmidt to pokušava objasniti hipotezom da oštećene stanice same djeluju kao alergeni i izazivaju stvaranje antitijela (53). Ipak treba konstatirati da je vrlo teško dokazati preosjetljivost na endoalergene, jer ih do sada nije bilo moguće izdvojiti i s njima izvršiti dokazne probe prema Doerrovim postulatima.

5. Premda su bakterijski alergeni u svim udžbenicima alergije zauzeli prilično stabilno mjesto u poglavlju o egzoalergenima, ipak još ima autora koji to uzimaju sa skepsom. Još nedavno, prilikom VII internacionalnog kongresa otorinolaringologa, organizatori su to pitanje smatrali tako aktualnim da je glavnom protagonistu »prave bakterijske alergije«
V. Hla-

vačeku dana prilika da u jednoj od glavnih tema obradi »svoj problem« (23). Ako smo, međutim prihvatili kao stvarnost uvodnu konstataciju iz prošlog odjeljka, da je infekcija patogenim mikroorganizmima jedan od najdrastičnijih inzulta prirodne obrane, nećemo naći zapreke da krenemo jedan korak dalje i pretpostavimo da mikroorganizmi ili njihovi produkti mogu igrati i ulogu alergena. Njihova biološka svojstva u stvaranju antitijela u imunološkom smislu vrlo su bliska stvaranju antitijela u alergološkom smislu. Kasnije ćemo dapače vidjeti, da je čak i teško povući granicu između obaju svojstava, a čak ćemo se susresti i s mišljenjem da su tu zapravo posrijedi dvije različite manifestacije istog stanja. Dakako da je zbog istog razloga teško i diferenciranje tih dviju pojava, pogotovo ako smo svjesni činjenice da postoji mogućnost istodobnog postojanja i preosjetljivosti i imuniteta prema određenom mikrobu. Stupanj i kvaliteta tih stanja može se osim toga u istom objektu mijenjati zbog *interferencije endogenih i egzogenih faktora*. Dodamo li k tomu još i to da postoji i mogućnost istodobne bakterijske i nebakterijske alergije svake za sebe na istom organizmu ili da se jedna razvije na temelju druge, shvatit ćemo u kako zamršenom klupku treba pronalaziti konce i zašto je identifikacija bakterijske alergije još uvijek diskutabilna. Hlavaček se studiozno pozabavio dokazivanjem bakterijske alergije i grupirao argumente u četiri skupine:

1. *anamneza*,
2. *bakteriologija sluznice*,
3. *kutani testovi s bakterijskim alergenima i*
4. *rezultati vakcinacije ili desenzibilizacije*.

Naročito su vrijedni dokazi iz posljednjih dviju skupina jer su mnogostruko provjereni – i eksperimentalno i u rutinskoj praksi. Upravo rinolška iskustva s kroničnim sinusitisom i fokalnim zbivanjima najviše pridonose Hlavačekovu stanovištu.

Mi se priklanjamo Hlavačekovu stanovištu ne samo zbog uvjerljivih dokaza nego osobito zbog toga što ono daje zadovoljavajuća objašnjenja u nekim važnijim rinološkim problemima, kao što je npr. kronični sinusitis. Nije naš zadatak da ovdje iznosimo dokaze ili protudokaze, ali ćemo ipak ovdje navesti nekoliko suprotnih mišljenja. Letterer, koji podupire ideju o bakterijskoj alergiji, tvrdi da čak svaki pojedini infekt ima svoju alergiju i da je to ono što svakoj bolesti daje svojstvenu sliku (35). Naprotiv, Magrassi na temelju svojih eksperimentalnih iskustava poriče stvarnu osnovnu ulogu alergiji u infekcijama, izuzev u slučaju s tuberkulozom, smatrajući da je svaka sumnja na alergijsku etiologiju bazirana na neopravdanom proširenju koncepcije o alergiji izvan sukoba antigen – antitijelo ili na analogijama koje su često u kontradikciji s eksperimentalnim nalazima (36). Schick smatra senzibilizaciju na heterogene supstancije uvjetom »patološke alergije«, dok »fiziološka alergija«, koja je uvijek uzrokovana patogenim mikroorganizmima, može dovesti – nasuprot prvoj – do imuniteta (52).

Zironi misli da je osjetljivost prema infekciji djelomično uzrokovana smanjenom rezistencijom organizma prema infekcioznom agensu, a koja se bazira na alergijskom mehanizmu (70).

Neki dapače u tom pogledu idu još dalje, pa tvrde da do bakterijalne alergije može doći čak i uslijed same prisutnosti bakterija. Heise npr. tumači postanak nekih respiratornih infekcija uzrokovanih saprofitnim bakterijama samo lokalnom reakcijom bakterijskih alergena i antitijela na bazi promjene reaktivnosti domaćina, što bi značilo »da bi za organizam bolje bilo ignorirati invazora nego se boriti protiv njega« ili drugim riječima, da je obrana destruktivnija od invazije.

Sa donekle sličnom pojavom sreli smo se kod Kochova fenomena, gdje se organizam brani žrtvovanjem jednog dijela vlastitog organizma. Teoretski se Heiseov nazor ne da poreći, jer ne postoje zapreke da i saprofiti koji obično žive u gornjem respiratornom putu mogu djelovati kao alergeni.

H. Schmidt pripisuje to alergološko djelovanje bakterija njihovim raspadnim produktima (54). Melchior tumači endemični karakter nosne infekcije u gradovima kod svake manje prehlade ubikvitetom virusa, koji u nosnoj sluznici stalno podržava antitijela, pa alergijska preosjetljivost dolazi do manifestacije kad god joj pomogne takav pomoćni faktor (39).

6. Problem fokalnih zbivanja također se dovodi u usku vezu s pravom bakterijalnom alergijom. Prema alergološkom tumačenju fokus sa svojim mikrobnim materijalom, živim ili neživim, bio bi izvor alergena koji senzibilizira razne strukture u organizmu kao što je endokard, bubrežni parenhim, zglobne strukture itd. Žarište tinja, a svaki recidiv upale smanjuje toleranciju organizma. Najčešća su žarišta u farinksu, paranazalnim sinusima i zubalu. Alergološki testovi redovito su negativni, a ne raspolažemo ni bilo kakvim drugim pouzdanim dijagnostičkim testom. Prema tome ne samo da je u pitanju dokaz fokusa u svakom pojedinom slučaju, nego i dokaz za alergološku suštinu fokusa uopće. Poneki terapijski uspjeh eliminacijom fokusa još uvijek nam ne dozvoljava generalno tumačenje mehanizma fokusa, naročito ne na alergološkoj osnovi, premda nema egzaktnih dokaza ni za ostale teorije, kao što je npr. hematogena diseminacija bakterija ili njihovih produkata. Ipak velik broj autora u svijetu danas fokus shvaća kao izvor antigena, a eventualni neuspjeh nakon operativne eliminacije žarišta, npr. recidiv atake na zglobovima kod svakog faringitisa, tumači se sklonošću takvih osoba da reagiraju hiperergički i na nebakterijalne alergene.

Prema statistici, koju je objavio Gušić (17), kod 1200 tonzilektomija izvršenih zbog reumatizma na fokalnoj osnovi, bilo je samo 9 slučajeva recidiva infekcije.

Mi smatramo da nema nikakve teoretske zapreke za postojanje fokusa u teoretskom smislu, ali zbog velike šarolikosti i variranja u kliničkim slikama većine naših bolesnika nismo u stanju egzaktno verificirati alergen i fokalno zbivanje u pojedinim slučajevima.

7. Premda je pitanje inficiranja alergiziranog tkiva vezano uz više nepoznanica nego svi dosadašnji aspekti odnosa alergije i infekcije, ovdje ima u stručnoj literaturi začudo najmanje razilaženja. Ta konstatacija osobito vrijedi za alergiju u području rinologije. Sažeto rečeno, rinolozi su gotovo jednoglasno mišljenja da je alergizirana sluznica nosa vrlo sklona infekciji.

Po mišljenju Shambaugha na alergičnoj podlozi razvija se 70% svih sinusnih i 90% kroničnih infekcija nosa (56). Među našim autorima takvom je nazoru sklon Podvinec, koji tvrdi da čista alergija priprema teren za infekciju (43), a također i priznati autoritet Van Dishoeck pridaje veliku važnost alergiji u patogenezi rinosinusnih infekcija (63). Markow čak slikovito kaže da alergija čini krevet infekciji (37).

Ne može se poreći vrijednost zapažanja svih tih iskusnih autora, ali kao što je u predgovoru rečeno, može se postaviti jedna ozbiljna zamjerka: tvrdnje o sklonosti alergizirane podloge prema infekciji baziraju se na statističkim nalazima koji vrlo često pokazuju koincidenciju upale i alergije na respiratornoj sluznici, ali ne vode računa o tome da li je alergija pri tome doista primarna, a infekcija sekundarna. Nadalje, mogli bismo postaviti postulat da se posebno razmatra odnos infekcije prema tkivu alergiziranom na mikrobnе alergene i na alergene drugog porijekla, jer u prvom slučaju dolazimo u opasnost da uzrok zamijenimo s posljedicama. Osim toga postoji mogućnost da infekciozni stres učini latentnu preosjetljivost, koja je do sada bila kompenzirana, manifestnom. I na kraju bismo dodali na osnovi vlastitog iskustva da bi trebalo posebno razmatrati akutne i kronične infekcije, sezonsku i nesezonsku alergiju kao i sve moguće njihove uzajamne kombinacije.

Ovu problematiku smatramo bitnom za naš osnovni problem i zato ćemo je nakon eksperimentalnog dijela ponovno uzeti u razmatranje i tom prilikom primijeniti iskustva stečena u eksperimentima i na bolesničkom materijalu.

8. Uza sve dijagnostičke poteškoće, danas smo u mogućnosti da dobar dio slučajeva bronhalne astme protumačimo reakcijom antigen – antitijelo. Premda traheobronhalno stablo pripada donjem dijelu dišnog puta, zbog svoje specifične sluznice respiratornog tipa sačinjava jedinstvenu cjelinu sa sluznicom nosa, a to nam dozvoljava da sa stanovitom rezervom vršimo uspoređivanja. Značajan je podatak da je osim anatomskih podudarnosti i patologija obaju dijelova respiratornog sistema često u vrlo uskoj vezi. Bit će korisno da u prilog ovom stanovištu iznesemo iskustva koja su Findeisen i Wiedeman (12) stekli komparativnim proučavanjem 46 bolesnika sa bronhalnom astmom, među kojima je 8 imalo peludnu astmu, 18 bakterijsku, a ostali druge geneze. Oni su izvršili probeksciziju sluznice iz nosa, ždrijela i bronha i rezultati koje su dobili histološkom i citološkom analizom pokazali su da su se duž čitavog dišnog puta nalazile uvijek istovrsne promjene i da prema tome postoji morfološko i funkcionalno jedinstvo respiratorne sluznice.

Također je vrlo ilustrativan podatak koji su objavili Voorhorst i Vries (66) na temelju ispitivanja 409 bolesnika s bronhalnom astmom uzrokovanom alergijom na kućnu prašinu. Oni su našli da je 56% bolesnika imalo uz astmu i alergijski rinitis i da na taj postotak nisu utjecali ni dob ni spol bolesnika, a niti je bilo razlike u pogledu kožne reakcije i eozinofilije.

Ovi nam podaci daju pravo da se u okviru svoje teme pozabavimo i odnosom astme prema infekciji respiratorne sluznice, kao i da povučemo izvjesne paralele između gornjeg i donjeg dijela dišnog trakta. Neki autori u toj komparaciji idu čak tako daleko da alergijski rinitis nazivaju nosnom astmom s obzirom na istovrsnu strukturu histoloških promjena i etiološkog jedinstva.

I ovdje se većina gledišta može svesti pod dva zajednička nazivnika: astma kao posljedica infekcije i infekcija kao posljedica astme. Po nekima jedna od tih premisa isključuje drugu, a ima ih koji dozvoljavaju obje mogućnosti, pa neke kliničke slike astme objašnjavaju cikličkim tokom, interferencijom obiju komponenata. Mi kao rinolozi, sa skromnim iskustvom o donjim dišnim putovima, nemamo pravo da dajemo meritorno mišljenje o astmi, ali na temelju analogija s gornjim dišnim putom imamo pravo upozoriti na nekoliko važnih činjenica. Jedna je već ranije spomenuto proizvoljno tumačenje statističkih podataka, kada se učestalost infekcije i pozitivni bakteriološki nalaz uzima kao dokaz o sklonosti astme infekciji, a druga je astma uslijed senzibilizacije na bakterije. U prvom slučaju treba pomisliti, nije li infekcija primarni faktor koji je otvorio vrata alergiji rušenjem obrambenih brana, a u drugom smatramo da uopće ne može biti sumnje o primarnosti infekcije. Promptni terapijski uspjesi s antibioticima kod astme ne bi bili mogući da je infekcija sekundarna pojava, jer bi alergija ostala djelotvorna unatoč eliminiranju infekcije. Upozoravamo na staro iskustvo, da napad astme često nastaje nakon respiratornih akutnih infekcija, i obratno, da se neposredno nakon čistog astmatičnog napada rijetko nadovezuje infekcija.

E. Salen je utvrdio na većem broju astmatičara u Švedskoj da više od polovine dobiva napad poslije infekcije respiratornih putova (51). A. Haib velik dio astmatičara u Belgiji pripisuje sezonskim respiratornim infekcijama nosa i bronha. Kod nas su Danilović i Verbič došli do zaključka da je astma kod djece u 88% slučajeva posljedica bronhitisa (6).

Jedan od primjera koji najinstruktivnije objašnjava vezu alergije i infekcije, jest sinobronhalni sindrom kod djece kod kojeg nesumnjivo infekcija igra primarnu ulogu, a alergija sekundarnu. Imali smo priliku liječiti jednog bolesnika u školskoj dobi koji je već nekoliko godina patio od bronhalne astme i prošao kroz nekoliko zdravstvenih ustanova. Bio je u više navrata i na klimatskom liječenju. Alergološkim ispitivanjem utvrđena je izrazita preosjetljivost na perje i nešto manja osjetljivost na još nekoliko alergena iz inhalacione grupe. U anamnezi smo dobili značajni podatak da je nakon svake infekcije u nosu dolazilo do serije teških astmatičkih napada. Kliničkom pretragom smo utvrdili da se radi o fokusu u etmoidalnom labirintu, odakle je infekciozni materijal descen-

diranjem stizao do bronha. Konzervativnim liječenjem tog žarišta ubrzo smo postigli nestajanje svih simptoma bronhalne astme. Očito je da je ovdje riječ o infekciji koja je igrala ulogu provokatora, a da pri tome nije sama senzibilizirala organizam. Premda su takvi slučajevi danas već opće poznati, i nije ih potrebno posebno dokazivati, ističemo ih zato jer sanacija astme uklanjanjem infektivnog žarišta u sinusu nepobitno dokazuje njihovu uzročnu vezu i etiološku ulogu infekcije u astmi.

U nekim slučajevima astme ipak ne možemo negirati mogućnost razvika infekcije na alergiziranoj podlozi, ali to se odnosi na one najteže slučajeve gdje je dugotrajnost i težina osnovne bolesti dovela do sloma otpornih snaga ili do mehaničkih uvjeta za razvitak infekcije uslijed staze, retencije sekreta i razvijenih bronhiektazija.

Analognu situaciju nalazimo u području nosa kada produkti vazomotorog rinitisa, kao što su edem, hipertrofija i polipoza mehaničkim djelovanjem uzrokuju retenciju u sinusima i opstrukciju njihova ušća.

9. U okviru razmatranja o odnosu infekcije i alergije spomenut ćemo radi potpunosti i slučaj koji su publicirali još prije rata Radosavljević i Spužić (48). Radilo se o jednoj bolesnici s teškom astmom, kod koje su inokulacijom malarije postigli prestanak napada u dva maha po šest mjeseci. Svakako da je ovakav pokušaj terapije astme kuriozum bez presedana u alergiji i da nije naišao ni na povoljan odjek niti dobio sljedbenike. Njegov povoljan efekt može se objasniti povećanjem tjelesne temperature kod malaričnog napada u skladu sa zasadama piretoterapije, a nikako ne osobinama uzročnika malarije. Sličan efekt pokušala je postići jedna švicarska farmaceutska tvrtka ekstraktom mikroba u različitim koncentracijama pod imenom Pyrifer, za intravenoznu primjenu, a kod nas poslije rata treba spomenuti iskustva Vuletića s preparatima sumpora, navodno s dobrim rezultatima (67).

ZAKLJUČAK

Iz dosadašnjih je izlaganja vidljivo da postoji čitav niz dokaza koji nepobitno potvrđuju usku uzročnu vezu između infekcijskih agensa i alergije, pri čemu je infekcija primarna, a alergija sekundarna pojava. Da bi se to shvaćanje, koje mi danas usvajamo kao neosporno utvrđenu činjenicu, afirmiralo i da bi nestalo podvojenosti u stručnim krugovima, trebalo je nekoliko decenija iskustva, kliničkih promatranja i eksperimentalnih radova. Svratimo li našu pozornost na rinološku literaturu, teško ćemo moći dokučiti, zašto je u rinologiji prevladalo suprotno shvaćanje, naime, da alergiziranje samo po sebi predstavlja favorizirajući faktor za razvitak sekundarne infekcije. I dok smo za prvu tvrdnju mogli nanizati čitav niz eksperimenata i poznatih imena i tako prikazati njenu idejnu evoluciju, za potonju se ne može naći nikakvih fundamentalnih radova. Možemo samo konstatirati da se tvrdnja o sklonosti alergične podloge k infekciji provlače kroz brojne rinološke priručnike i da je jedan autor preuzima od drugoga kao definitivnu činjenicu i u dobroj namjeri. Iz tih razloga nije nam bilo moguće dati prikaz idejnog razvoja ove tvrdnje.

Sve ovo ističemo zato da bismo što više podvukli smionost dvojice talijanskih autora, Clericija i Teatinija, koji su na Sedmom internacionalnom kongresu otorinolaringologa 1961. prvi puta u ozbiljnoj formi, iako na diskretan način, iznijeli u svom referatu »Specific and Non-Specific Nasal Allergy and its Relationship to Infection« ideju da alergizirana sluznica nosa u izvjesnim slučajevima pokazuje povišenu otpornost prema infekciji (60). Za svoju tvrdnju oni nisu mogli iznijeti nikakve egzaktno dokaze izuzev stanovitog kliničkog iskustva i nekih teoretskih premisa, pa je njihov referat, iako praćen s interesom, ostao usamljen, a ni kasnije nije imao odjeka u svjetskoj rinologiji. Mi ćemo njihova gledišta uzeti u obzir prilikom diskusije o rezultatima naših eksperimenata i uklopiti ih u prikaz našeg shvaćanja o tom problemu.

ALERGIJSKI I NEALERGIJSKI VAZOMOTORNI RINITIS

Diferencijalnodijagnostičke teškoće. Nema sumnje da je jedna od najtežih prepreka s kojom se susreće istraživač alergijskog rinitisa, njegova identifikacija i diferencijalna dijagnoza prema raznim oblicima nealergijskih vazomotornih rinitida. Bilo bi pogrešno upustiti se u to područje dok ne utvrdimo neke zadovoljavajuće kriterije za klasificiranje raznih vazomotornih pojava i njihovih varijacija, i to najprije u dvije osnovne grupe, alergijsku i nealergijsku, a zatim u podvrste.

Vazomotorni rinitis je klinički sindrom koji može biti uzrokovan različitim endogenim i egzogenim faktorima na terenu hipersenzibilne nosne sluznice. Baš zbog te činjenice što različiti uzroci dovode do istog objektivnog kliničkog stanja, pa čak i do gotovo jednakih histoloških nalaza, postoji i danas prilična pomutnja u diferencijaciji etioloških faktora. Sve bolje mogućnosti dijagnostike alergije omogućile su tumačenje brojnih slučajeva vazomotornog rinitisa alergijskom etiologijom, ali su istodobno dovele do abuzusa pojma alergije, pa se u praksi često svaka pojava edematozne i lividne sluznice stavlja u grupu alergijskih manifestacija.

Kliničko je iskustvo pokazalo da razne kliničke vrste rinitisa, ovisno i o etiologiji i o stupnju anatomskih promjena, reagiraju prema infekciji na različite načine i zato naše proučavanje neophodno mora biti vezano uz stalno nastojanje da se strogo odvoje vazomotorni rinitisi alergijske prirode od nealergijskih. Dakako da kod bolesničkog materijala neće biti jednostavno udovoljiti tom postulatu, jer su diferencijalne mogućnosti vrlo male. Za to postoji nekoliko razloga. Glavna je teškoća bez sumnje u tome, što način reagiranja sluznice ne ovisi o vrsti nokse, nego kao što je to pokazao Gušić (18), o morfološkoj strukturi sluznice. Pa kako zbog toga pojedine vrste tkiva imaju samo ograničeni raspon i bogatstvo manifestacija, bit će glavna diferencijalnodijagnostička poteškoća morfološko siromaštvo promjena. Sluznica pri kroničnom podražaju reagira po nekom ustaljenom redosljedu, najprije povećanjem svojih sekre-

tornih elemenata i umanjenom pokretljivošću cilija, a zatim slijedi postepeno nestajanje cilija i visoko diferenciranih elemenata uz umnažanje veziva i propadanje bazalnog sloja (19). Prema tome, ne može se govoriti ni o hipertrofičnim i atrofičnim vrstama upala kao što je to uobičajeno, nego ćemo kronične upale shvatiti, kao i Gušić (20), kao jedinstveni funkcionalni i morfološki proces koji počinje s hiperemijom, ekudacijom i hiperplazijom, a svršava atrofijom kad se iscrpi reaktivna potencija tkiva. Ako dakle raznovrsnost reagiranja ne ovisi primarno o vrsti nokse koliko o njezinu intenzitetu, bit će utvrđivanje etiologije na temelju same inspekcije vrlo sumnjive vrijednosti. Za razliku od mnogih drugih vrsta tkiva, to kod nosne sluznice dolazi do naročitog izražaja. I anatomske i funkcionalne promjene kod vazomotornih rinitida različite geneze tako se malo razlikuju da je rinoskopska pretraga u diferencijalnodijagnostičkom pogledu sasvim nedovoljna, a kako su klinički i laboratorijski testovi također nepouzdana, najčešće moramo pribjeći tako subjektivnom elementu kao što je anamneza ili tako mukotrpnoj i dugotrajnoj metodi kao što je *ex iuvantibus* ili *per exclusionem*.

Klasifikacija i terminologija. U skladu s gore iznesenim postavkama napustili smo i kod vazomotornih rinitida klasifikaciju na osnovi patološko-morfoloških promjena. Kao misao vodilju prihvatili smo etiologiju, jer nas ona u našim istraživanjima najviše može približiti razumijevanju razlika koje pokazuje pojedine kliničke forme rinitida prema infekciji, uzimajući pri tome u obzir funkciju sluznice i biološka zbivanja u organizmu.

Za razliku od klasifikacije, koja ima praktičnu vrijednost, terminologija nije od bitne važnosti i osim u osnovnoj podjeli nismo zauzeli određeni stav niti predložiti nazive za pojedine forme. Terminima alergijski i nealergijski vazomotorni rinitis dali smo prednost pred ostalima zato jer su u domaćoj literaturi ponajviše u upotrebi i jer smo se tim terminima koristili i u našim dosadašnjim radovima iz alergološke tematike. To su razlozi zašto se nismo priklonili nazivima *topic* ili *non-atopic* vasomotor *rhinitis*, tj. atopički i neatopički vazomotorni rinitis, koje je prihvatila većina autora u svijetu, naročito anglosaksonskih. Naziv *atopy* uveo je u literaturu Coca i njime je označio pojave koje nastaju na bazi reakcije alergena i antitijela.

Prihativši dakle osnovnu podjelu na alergijski i nealergijski vazomotorni rinitis, podijelit ćemo svaki od njih na dvije podvrste (44), što će nam vrlo korisno poslužiti pri eksplikaciji na kraju ove rasprave.

I. Alergijski vazomotorni rinitis

1. Sezonski vazomotorni rinitis. – Uzrakovan je inhalacionim alergenima. Tipičan primjer je *rhinitis allergica pollinosa*. Klasična klinička slika pokazuje trijas simptoma: začepjenost nosa, svrbež s kihanjem i hipersekreciju. Klinički tok je karakteriziran atakama iza kojih slijede slo-

bodni intervali. Promptno ga izaziva inhalacija određenog alergena. Prestanak simptoma je također promptan i remisija potpuna. Za vrijeme intervala nema nikakvih kliničkih smetnja niti rinoskopskih promjena.

2. Nesezonski alergijski rinitis. – Uzrokovan je čestim ili trajnim kontaktom s alergenima, koji put i nutritivnima. Atake nisu tako tipične kao kod sezonskog rinitisa, manje je kihanja, a upadljivija začepljenost nosa i profuzna mukozna sekrecija. Za vrijeme intervala može perzistirati začepljenost nosa, a može joj se pridružiti glavobolja, utikarija i razne druge alergijske pojave. Rinoskopski nalaz nije tipičan.

II. Nealergijski vazomotorni rinitis

1. Vazomotorni rinitis u atakama sa slobodnim intervalima. – Može biti uzrokovan raznim faktorima: psihičkim, fizičkim, endokrinim, neurovegetativnim itd. Dolazi u sličnim napadima kao rinitis pollinosa, ali simptomata ipak ima i u slobodnim intervalima, dakle kroz čitavu godinu, pa prema tome nije sezonski. Klimatski faktor nema naročiti utjecaj na tok bolesti. Rinoskopska slika ne pokazuje tipičnih znakova za ovu formu.

2. Vazomotorni rinitis s kroničnim tokom. – Sekrecija je oskudna, nema svrbeža u nosu ni kihanja, a izražena je prevaga nosne opstrukcije koja se mijenja prema položaju tijela, čas na jednoj, čas na drugoj strani. Ova forma je dosta tipična za osobe s neurovegetativnom distonijom, bilo općom bilo lokalnom. Rinoskopski se vide hiperplastične promjene na školjkama, a sluznica je mjestimično ili jednostrano lividna. Može trajati godinama, začepljenost nosa postaje stalna i komplicira se infekcijama. U finalnom stadiju dolazi i do stvaranja polipa.

Sumirajući podatke iz gornje podjele, konstatirat ćemo da pretežni dio simptoma nalazimo u obje grupe vazomotornih rinitisa. Nema sumnje da one u svojoj biti imaju mnogo zajedničkoga. To je u prvom redu način reagiranja. Koje su bitne osnove za takav način reagiranja, nastoji osvijetliti naš prvi eksperiment. Međutim, prije eksperimenta bit će potrebno da se dotaknemo dijagnostike nealergijskog vazomotornog rinitisa i diferencijalne dijagnoze prema alergijskom, jer će samo na taj način doći do izražaja važnost i opravdanost posizanja za pokusnim životinjama.

Dijagnoza nealergijskog vazomotornog rinitisa. Iz iskustva s vlastitim bolesnicima znamo da do dijagnoze nealergijskog vazomotornog rinitisa dolazimo kod današnjeg stanja alergo-ringologije metodom isključivanja alergijske etiologije. Ne možemo se složiti s onim autorima koji smatraju da je u tu svrhu dovoljna anamneza, rinoskopija i možda još nekoliko rutinskih pretraga kao što su bris iz nosa, krvna slika ili mjerenje krvnog tlaka. Ukoliko želimo egzaktniju dijagnozu, a ta će biti potrebna kod svakog težeg ili kompliciranijeg slučaja, naročito kod onih koji su rezistentni na terapijske pokušaje, ne možemo mimoći alergološko te-

stiranje. Štaviše, i nakon tako potvrđene dijagnoze nealergijskog vazomotornog rinitisa, nikad ne možemo biti posve sigurni nije li posrijedi ipak neki alergen koji se ne nalazi među alergenima što služe za ispitivanje, pa je tako izbjegao našoj analizi. Ali treba misliti i na još jednu mogućnost, koja nas može dovesti na pogrešni put. Kod naših bolesnika koji put možemo posve sa sigurnošću utvrditi da se radi o alergijskom rinitisu, ali nikad ne možemo isključiti mogućnost da se alergija superponirala na ranije postojeći vazomotorni rinitis. O toj mogućnosti u rino­loškoj literaturi nema podataka, ali kliničko iskustvo na našoj vlastitoj kazuistici pokazuje da to nije rijedak slučaj i da raniji vazomotorni poremećaji na sluznici nosa često igraju važniju ulogu kao predisponirajući faktor za razvitak alergije nego što mi mislimo. Upravo zbog toga treba istaknuti vrijednost eksperimenata na životinjama, gdje kombinaciju alergijskog i nealergijskog rinitisa sa sigurnošću možemo isključiti, budući da svaki od tih rinitisa izazivamo artifi­cijelno na zdravim životinjama, pa tako sasvim sigurno raspolazemo s nosiocima alergijskog ili nealergijskog vazomotornog rinitisa.

Prva eksperimentalna tema

REACIRANJE SLUZNICE NOSA KOD VAZOMOTORNOG RINITISA

Zadatak. U prvoj eksperimentalnoj temi zadržali smo se samo na nealergijskom vazomotornom rinitisu, prikazali smo način na koji se on može izazvati, njegovu histološku verifikaciju, histološke osobine i, konačno, pokazali razliku u reagiranju između normalne nosne sluznice i one kod nealergijskog vazomotornog rinitisa. Eksperimenti su vršeni na činčila kunićima prosječne težine 3500 grama, a starima od 6 do 12 mjeseci. Nealergijski vazomotorni rinitis izazvali smo cervikalnom sim­patektomijom. Ovaj se postupak bazira na ulozi neurovegetativnog sistema u patogenezi vazomotornog rinitisa.

Uloga neurovegetativnog sistema u patogenezi vazomotornog rinitisa. Mnogi autori misle da su disbalanse neurovegetativnog sistema jedan od etioloških faktora ne samo u nealergijskom nego i u alergijskom rinitisu, i to u smislu prevage parasimpatikusa. U prilog vagotoniji govori činjenica da iritacija vagusa izaziva bronhokonstrikciju, a simpatikusa bronhodilataciju. Tome u prilog govore i tri Secretanova slučaja vazomotornog rinitisa nakon stelektomije (55). Kod nas je sličnu pojavu opisao Hubert kod bolesnika od astme liječenih resekcijom gangliona stelatuma, kod kojih se nakon resekcije redovito javljao vazomotorni rinitis na operiranoj strani (24). To isto je zabilježio i Fowler nakon resekcije gornjeg cervikalnog ganglija (13), a Krajina kod bolesnika gdje je izvršena stelektomija zbog arahnoiditisa (30). Dodat ćemo tome i jedno vlastito kliničko zapažanje. Hipertoničari koji se liječe moderatorima neurovege-

tativnog sistema, često traže pomoć kod rinologa zbog vazomotornog rinitisa. Redovito zapažamo da se radi o vagotoniji, koja prestaje zajedno sa simptomima ubrzo nakon prekida terapije. Slične tegobe, ali s izraženim oscilacijama, nalazimo i kod bolesnika s oscilirajućom hipertonijom. Atake vazomotornog rinitisa vezane su uz pad tlaka, tj. prevagu vagusa.

I simpatička inervacija nosa ima mogućnosti da izaziva šire reflektorne reakcije i to ne samo u obliku visceralnih refleksa nego preko veza sa stražnjim korijenima senzibilnih živaca i somatske reflekse. U izvjesnu nedoumicu mogu nas dovesti malo prije spomenuti pokušaji terapije astme simpatektomijom, mada se smatra da je astma izraz vagotonije i često alergijske prirode. Zanimljivo objašnjenje za tu prividnu nelogičnost, koja zadaje mnogo brige teoretičarima, daje Duančićeva teorija (8) da vagus i simpaticus djeluju na muskulaturu bronhiola jednako kao i na muskulaturu arterija, tj. antagonistički, ali da je efekt tih antagonista u bronhiolima posve suprotan efektu u arterijama i to zbog anatomske strukture: u arterijama je građa mišića cirkularna, a u bronhiolima spiralna. Zbog toga u prvima kontrakcija izaziva suženje lumena, a u drugima proširenje uslijed skraćivanja cijevi. Budući da suma presjeka svih bronhiola premašuje presjek traheje i glavnih bronha (u njima je muskulatura cirkularne građe), pri podraživanju simpaticusa prevagu će imati proširenje respiratornih putova. Danas nema sumnje da neurovegetativni sistem igra veoma važnu ulogu u patofiziologiji, pa tvorac relacione patologije Ricker promatra sve probleme opće patologije kroz prizmu primarnog podražaja terminalnog retikuluma i na taj način uspijeva dati objašnjenja za neke inače teško rješive probleme. Nema sumnje da je takvo stajalište odviše ekstremno i da podsjeća na sličan ekstremni stav Speranskoga, koji isto takvu odlučnu ulogu pripisuje centralnom nervnom sistemu, pa sva normalna i patofiziološka zbivanja, uključivo alergiju i tok infektivnih bolesti, objašnjava samo djelovanjem centralnog nervnog sistema (57). Dakako da nećemo tako daleko slijediti spomenute autore, ali nećemo niti prijeći granice vjerodostojnosti ako bogatoj živčanoj mreži u području nosa pripišemo veoma važnu ulogu u fiziološkim funkcijama i mnogim reflektornim odrazima u udaljenijim regijama. To nam potvrđuje i činjenica da nos ima svoj vlastiti neurovegetativni centar, ganglion sfenopalatinum, velik poput zrna leće. On je doduše posve parasimpatički ganglij, jer se u njemu vrši samo prekapćanje nervus petrosus superficialis majora, ali mu se pridružuje simpatički ogranak iz perikarotidnog pleksusa i ogranak Jakobsanova živca, pa zajedno čine nervus Vidianus. Simpatička inervacija kod kunića je također pod kontrolom gornjeg cervikalnog ganglija. Ipak, da bi u našem eksperimentu bila sa što većom sigurnošću izvršena simpatička denervacija, denervirana je još i arterija karotis komunis. Operacija je zahtijevala minucioznu tehniku, a vršena je u anesteziji uretanom koji je apliciran kroz aurikularnu venu.

Rinoskopski nalazi. Simpatektomija je vršena samo na jednoj strani, pa je na taj način dotična strana nosa ostala bez simpatičke inervacije,

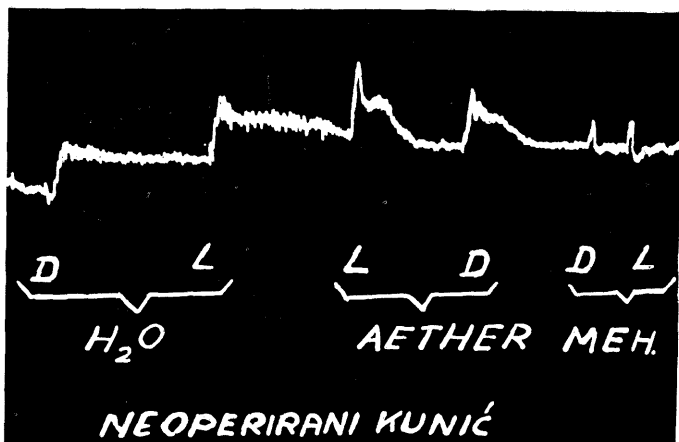
samo sa parasimpatičkom. Time je izazvan nealergijski vazomotorni poremećaj u jednoj polovini nosa, dok je druga polovina nosa ostala nepromijenjena i mogla je služiti u komparativne svrhe. Da nakon simpatektomije doista dolazi do vazomotornih pojava na denerviranoj strani, uvjerala nas je tipična rinoskopska slika s edemom, pojačanom sekrecijom i lividnom bojom sluznice.

Histološki nalazi. Rinoskopski nalaz provjeren je i histološkim pretragama. Na slikama 4. i 5. je histološki presjek septuma kod dvaju pokusnih kunića, kod jednog 5, a kod drugog 15 dana nakon simpatektomije. Sluznica na lijevoj strani septuma ima sačuvanu autonomnu inervaciju, a na desnoj strani je sluznica koju inervira samo parasimpatikus, dok je simpatikus eliminiran. Kod kunića koji je žrtvovan 5 dana nakon simpatektomije vidi se na denerviranoj strani jako izraženi edem sluznice s proširenim krvnim žilama. Kod kunića koji je žrtvovan nakon 15 dana, promjene su već nešto manje izražene. Kod treće životinje (slika 6), koja je žrtvovana nakon mjesec dana, još uvijek reparacija nije definitivno završena, ali simptoma vazomotornog rinitisa više nema. Ta tri histološka nalaza pokazuju da s vremenom nakon simpatektomije dolazi do kompenzacije i stabilizacije neurovaskularnog aparata, pa prema tome treba prilagoditi vrijeme u kojem će se vršiti istraživanja vazomotornog rinitisa na eksperimentalnim životinjama. Simpatička denervacija izvršena je nad 5 kunića, a isto toliko služilo ih je kao kontrolna grupa. Prema tome kontrola je bila dvostruka: 1. na kontrolnim životinjama i 2. na intaktnoj strani operiranih životinja.

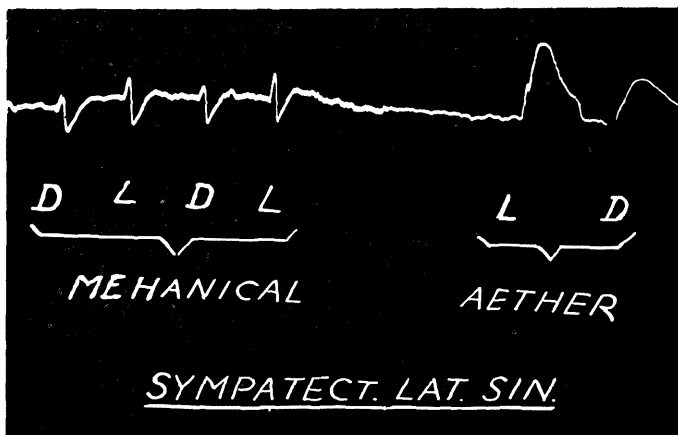
Kimografski nalazi. Osim histološkom verifikacijom, vazomotorni rinitis je dokazan i ispitivanjem podražljivosti denervirane sluznice nosa, i to na originalan način (31). Operativnim putem oslobođena je jedna arterija femoralis i povezana s kimografom. Na taj način dobili smo na kimografu krivulju koja je registrirala krvni tlak za vrijeme pokusa. Za vrijeme eksperimenta kunići su bili anestezirani uretanom, tako da su bile isključene bilo kakve obrambene reakcije koje bi mogle utjecati na krivulju kimografa. Pokus se sastojao u podraživanju sluznice nosa na zdravoj i na denerviranoj strani, a na krivulji kimografa su registrirane promjene krvnog tlaka koje su izazvane podraživanjem. Aplicirane su tri vrste iritacije na sluznicu:

1. kemijska (5–10 kapi etera)
2. fizikalna (ukapavanje hladne vode, insuflacija toplog zraka Politerovim balonom i
3. mehanička (šakljanje sluznice nosa smotuljkom vate).

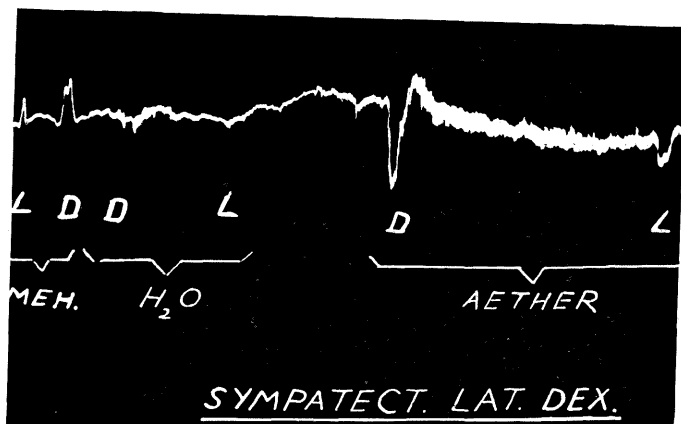
Ovi podražaji po svojoj kvaliteti i intenzitetu, dakako, nisu bili fiziološki, ali su se jedino na taj način mogle dobiti divergentne reakcije. Kimografske krivulje dobivene na taj način (slika 1–3) pokazale su jasnu divergenciju između zdrave i denervirane strane i time dokazale ne samo



Slika 1. – Kimografski prikaz oscilacije krvnog tlaka kod zdravog kunića nakon podraživanja nosne sluznice hladnom vodom, eterom i mehanički s pomoću vate. Krivulja pokazuje jednaku reakciju nakon podraživanja lijeve i desne strane nosa .



Slika 2. – Kimografski prikaz oscilacije krvnog tlaka kod podraživanja nosne sluznice kunića mehanički, eterom i hladnom vodom nakon simpatektomije na lijevoj strani vrata. Izražena je pojačana reaktivnost na denerviranoj strani.



Slika 3. - Sličan nalaz kao kod kunića na slici 2. nakon simpatektomije na desnoj strani vrata.

reflektornu vezu između nosne sluznice i krvnog tlaka nego i razliku u reagiranju između zdrave nosne sluznice i sluznice kod nealergijskog vazomotornog rinitisa izazvanog lišavanjem simpatičke inervacije.

Komentar. Rezultati ovog eksperimenta u skladu su s tvrdnjom Goodmana i Gilmana (15) da vegetativna denervacija uzrokuje u stanicama jaču osjetljivost prema kemijskim medijatorima i drugim nespecifičnim iritacijama, a isto tako i s kliničkim zapažanjem da je reagiranje nosne sluznice kod osoba s vazomotornim rinitisom jače izraženo nego kod normalnih individuuma. Nadalje, dobiveni rezultati su plod i endogenog i egzogenog faktora. Postoje razna mišljenja o tome, što je uzrok porasta senzibilnosti poslije denervacije stanice. Sigurno je da iritacija denervirane stanice uzrokuje takve funkcionalne promjene koje onemogućavaju brzi povratak u normalno stanje jer su poremećeni regulatorni mehanizmi koji mogu paralizirati utjecaje vanjskih faktora i dovesti do ekvilibrija. Naravno, što je jača i diferentnija iritacija, jače će biti i reaktivne promjene na sluznici. U našem eksperimentu iritacije su bile takvog intenziteta, koji nije dosegao stupanj traumatiziranja sluznice. Zanimljivo je da se mehanička iritacija na kimografskoj krivulji nije odrazila toliko kao fizikalna, i da je kemijski podražaj eterom izazvao najjaču reakciju. Dužnost nam je da pokušamo objasniti, zašto smo kod aplikacije etera dobili porast krvnog tlaka, jer je opće poznata činjenica da eter snižava krvni tlak i da to njegovo svjostvo zadaje i te kakve brige anesteziolozima. Objasnjenje je zapravo jednostavno: kod našeg ekspe-

rimenta eter je primijenjen izolirano na sluznicu nosa za razliku od narkoze, gdje eter uslijed resorpcije stiže do centralnog regulatora krvnog tlaka.

Rezultati ovih pokusa na kunićima ne mogu se, dakako, jednostavno prenijeti na čovjeka, ne samo zbog toga što je kod kunića za vrijeme eksperimenta u dobroj mjeri bio isključen centralni nervni sistem nego i zbog toga što je taj sistem kod čovjeka daleko razvijeniji, pa može još snažnije utjecati na pojavu disbalansa vazomotornog karaktera. Ipak ovaj eksperiment potvrđuje da nosna sluznica ima široke reflektorne veze s čitavim organizmom, a iz toga možemo izvući još jedan zaključak, naime, da iritacije negdje u organizmu putem ovakvih refleksnih veza mogu djelovati i na vazomotorni mehanizam sluznice nosa, naročito ako u njoj postoji vegetativna disbalansa. Odnos između simpatikusa i parasimpatikusa na nosnoj sluznici može znatno varirati. U našem eksperimentu izazvana je samo jedna varijanta denervacije, a sigurno je da različiti faktori mogu dovesti i do drugačijih odnosa između ovih dvaju sistema, pa u takvom slučaju treba očekivati i različiti odraz u rinoskopskoj slici. To je zapravo razlog, zašto u kliničkoj slici vazomotornog rinitisa postoji šarenilo i oscilacije u simptomatologiji. Da bismo u to šarenilo umijeli što više svjetla, krenut ćemo korak dalje i na slijedećem eksperimentu izvršiti komparativno istraživanje nealergijskog vazomotornog rinitisa kakav smo dobili cervikalnom simpatektomijom i alergijskog vazomotornog rinitisa. Na tom se problemu vrijedi zadržati nešto detaljnije, jer nam ovakva komparativna metoda baca stanovito svjetlo na pitanje odnosa infekcije i alergije u nosu.

Druga eksperimentalna tema

ODNOS ALERGIJSKOG I NEALERGIJSKOG VAZOMOTORNOG RINITISA

Eksperimentalna tehnika. Alergijski vazomotorni rinitis izazvali smo jednom modifikacijom metode senzibilizacije na konjski serum (32), koja je već odavna poznata kao jedna od najefikasnijih. Kao pokusne životinje i u ovom su nam slučaju služili činčila kunići ženskog spola, teški 3–4 kilograma, stari od 6 do 12 mjeseci. Kunićima smo uštrcavali tri dana za redom intramuskularno po 2 kubična centimetra inaktiviranog konjskog seruma, a nakon 7 dana isti smo serum svakodnevno po nekoliko puta aplicirali u nos raspršivačem, i tako izazvali alergijsku reakciju nosne sluznice. Pri tome smo nastojali svakako izbjeći aspiraciju seruma u donje dišne putove, jer su pluća kod zeca alergijsko šok-tkivo. Šok se javlja zbog vazokonstrukcije plućnih arteriola, što dovodi do hipertenzije u plućnom krvotoku i insuficijencije desnog srca, a to može svršiti cirkulatornom asfiksijom. Bogatstvo vaskularnog sistema u nosnoj sluznici omogućavalo je brzu resorpciju apliciranog seruma. Resorptivna

snaga nosne sluznice mnogo je veća nego snaga ostalih sluznica, naročito od one u usnoj šupljini, pa se računa da antigeni kroz nos prodiru oko sto puta brže nego kroz sluznicu usne šupljine (16). Resorpcija kroz nosnu sluznicu brža je i od supkutane primjene nekog sredstva, a po brzini difuzije u krvni optok vrlo je blizu onoj kod intravenozne primjene. U ovom eksperimentu bilo je važno da nakon opće senzibilizacije postignemo i visoki stupanj lokalne, a u tu svrhu je sluznica nosa vrlo pogodna.

Verifikacija općeg alergijskog stanja izvršena je 14 dana nakon početka eksperimenta intradermalnom injekcijom od pola kubičnog centimetra konjskog seruma, što je nakon 24 sata izazvalo tipičnu pojavu poznatu pod imenom Arthusov fenomen: nekrozu kože s vazodilatacijom u okolini. Arthus (1) je 1903. godine davao kunićima potkožno konjski serum u razmacima od 5 dana. Nakon prvih injekcija serum se bez teškoće resorbirao, a počevši od četvrte injekcije javljala se na tom mjestu najprije infiltracija, a kasnije i nekroza tkiva. Smisao ovog fenomena je u lokalizaciji antigena i u njegovoj eliminaciji putem nekroze, dakle, analogno Kochovu fenomenu kod tuberkuloze. Ni kod jednog našeg kontrolnog kunića nije se mogao konjskim serumom izazvati Arthusov fenomen. Ovi Arthusovi eksperimenti mogli su se izazvati samo istom vrstom seruma, što dokazuje da je senzibilizacija bila specifična. Osim toga pokus dokazuje da senzibilizacija može biti i lokalna, tj. usmjerena na pojedine vrste tkiva. Verifikacija alergijskog stanja nosne sluznice izvršena je ukapavanjem inaktiviranog konjskog seruma u nos, nakon čega su alergizirani kunići počeli usopljeno disati, za razliku od kontrolnih kunića, kod kojih nije bilo promjene u disanju. Istraživanje razlike između alergijskog i nealergijskog vazomotornog rinitisa vršeno je na tri načina: mikroskopskim pregledom nosne sluzi, bakteriološkim pregledom brisa iz nosa i histološkom pretragom nosne sluznice.

Histološki nalazi. Poznato je da histološki nalazi kod alergijskog i nealergijskog vazomotornog rinitisa ne pokazuju značajnije diferencije i potrebno je znatno iskustvo za diferencijalnu dijagnozu samo na osnovi histoloških nalaza. Mogućnosti reagiranja pojedine vrste tkiva vrlo su oskudne s obzirom na morfološke raznolikosti, i one više ovise o intenzitetu i trajanju, negoli o vrsti nokse. Nakon ekstirpacije simpatičkih ganglija na vratu redovito smo dobivali pojačanu sekreciju na toj strani, ali žljezde u histološkim nalazima ipak nisu bile adekvatno zastupljene. Izgleda da sekrecija nije samo produkt žljezdanih funkcija, nego i obilnog transudata koji potječe iz krvnih žila i prodire u subepitelno tkivo. Epitel je kod vazomotornog rinitisa dosta rastresit s razvijenim vrčastim stanicama i intraepitelnim žljezdama, koje bez sumnje sudjeluju u pojačanoj sekreciji. Histološki nalaz se osim toga razlikuje i s obzirom na vrijeme proteklo nakon simpatektomije. Na priloženim slikama uspjeli smo prikazati neke karakteristične razlike između obiju vrsta vazomotornog rinitisa. Na slici 7. vidimo sluznicu nosa kod kunića deset dana nakon simpatektomije, a na slici 8. i 9. kod alergiziranog kunića za vrijeme alergijske

atake. Kod obje životinje vidi se edematozna sluznica, zadebljani epitel, stanična infiltracija i proširene krvne žile, međutim, kod prve je infiltracija tako obilna da govori u prilog sekundarnoj infekciji, dok kod druge vidimo tipičnu vakuolizaciju epitela. Razliku između vazomotor-nog rinitisa i zdrave sluznice efektno pokazuju slike septuma broj 4. i 5. Na njima se vidi s jedne strane hrskavice normalna sluznica, a s druge vazomotorne promjene. Ukoliko pak želimo vidjeti stanje sluznice nakon simpatektomije u raznim vremenskim razmacima, to će nam omogućiti histološka usporedba sluznice životinja žrtvovanih u različitim vremenskim razmacima. (Svi histološki preparati izrađeni su u histološkom laboratoriju Klinike za bolesti uha, nosa i grla Medicinskog fakulteta u Zagrebu i obojeni hemalaun-eozinom.) Komparirajući ove nalaze s histološkom slikom alergijskog rinitisa, stječemo utisak da je u potonjem manje upalnih stanica i sekundarne infekcije, premda nema diferencije u rinoskopskoj slici. Precizniji odgovor na to pitanje dat će nam dva slijedeća odjeljka u kojima iznosimo rezultate mikroskopskih i bakterioloških pretraga sluznice.

Mikroskopski pregled nosne sluzi. Kod svih pokusnih životinja izvršena je mikroskopska pretraga brisa sluznice nosa prije eksperimenta i u nekoliko mahova nakon eksperimenta. Bris je uziman smotuljkom vate na tankoj žici kroz ušni lijevak, a na imobiliziranoj životinji uz maksimalno izbjegavanje traumatiziranja i onečišćenja. Na priloženoj tabeli I prikazani su nalazi odvojeno za alergijski i nealergijski vazomotorni rinitis. Rinoskopskom pretragom vidjela se i kod jedne i kod druge grupe edematozna sluznica s lividnom nijansom. Kod alergiziranih životinja vidjela se osim toga još i pojačana sekrecija, a promatranjem smo utvrdili i respiratorne smetnje u obliku bržeg disanja i šumova izazvanih obiljem sekreta u dišnom putu. Ispitivanje pH faktora lakmusovim papirom pokazalo je kod obje grupe podjednaku alkaličnu reakciju. Do normalizacije nosne sluznice došlo je upadljivo brže nakon atake alergijskog vazomotornog rinitisa, što je i razumljivo s obzirom na reverzibilnost alergijskih promjena, za razliku od denerviranog tkiva, gdje je zbog lezije regulatornog mehanizma vraćanje u normalno stanje nastupilo znatno kasnije. To je u skladu i s kliničkim iskustvom da uklanjanjem alergena promptno dolazi do regresije simptoma rinitisa, dok se kod nealergijskog vazomotornog rinitisa, gdje redovito djeluju trajniji endogeni faktori, uspjesi u terapiji postižu daleko sporije.

Uspoređujući nalaze objiju grupa možemo konstatirati da prije eksperimenta nije bilo razlike u brisu nosa između zdravih i alergiziranih kunića. Značajno je da je i nakon simpatektomije kao i nakon izazivanja alergijske reakcije došlo do eozinofilije.

Tumačenje eozinofilije. Eozinofilija se smatra jednim od tipičnih nalaza na sluznici nosa za vrijeme alergijske atake. Mišljenja o suštini te pojave prilično se razilaze. Kako ćemo se i u slijedećoj eksperimentalnoj temi susresti s pitanjem eozinofilije u vezi s infekcijom, potrebno

TABELA 1

MIKROSKOPSKI PREGLED NOSNE SLUZI KUNIĆA

1. NEALERGIJSKI VAZOMOTORNI RINITIS

Prije simpatetomije	nekoliko epitelnih stanica nešto sluzi
6 sati nakon operacije	dosta epitelnih stanica mnogo sluzi mnogo eozinofilnih stanica
3 dana nakon operacije	mnogo segmentiranih leukocita

2. ALERGIJSKI VAZOMOTORNI RINITIS

Prije izazivanja alergijske reakcije	nekoliko epitelnih stanica
nakon 6 sati	dosta epitelnih stanica mnogo sluzi mnogo eozinofila
nakon 3 dana	obilna gusta sekrecija iz nosa, povremeno mliječnog izgleda kod jedne od 3 životinja bakterije
nakon 10 dana	bris normaliziran

je da se s nekoliko riječi osvrnemo na to pitanje i zauzmemo određeno stanovište. Van Dishoeck smatra nalaz eozinofila u razmazu nosa pouzdanim znakom za diferencijalnu dijagnozu, jer je nalazi u 90% slučajeva alergijskog rinitisa, a u kontrolnoj grupi od stotinu zdravih osoba ni u jednom slučaju (62). Važnost eozinofila u alergiji potkrepljuje i njihovom pojavom nekoliko sati nakon stavljanja alergena u nos bolesnika. Krahl je pretražio 47 alergičara i u nosu našao eozinofile samo u 20% bolesnika, dok je kod istih ljudi u krvi pozitivan nalaz imao u 40% bolesnika (29). Walgren i Estola upozoravaju da su kod 18 djece s astmatičnim bronhitisom, koja su imala pozitivni nalaz eozinofilije u krvi i brisu nosa, nakon jedne injekcije od 25 do 50 mg kortizona utvrdili da je šest sati nakon injekcije eozinofilija u krvi pala, ali da u nosnoj sluzi nije bilo nikakve promjene. Iz toga zaključuju da je jedino pouzdano sredstvo za dokazivanje eozinofilije pregled brisa iz nosa (68). Voorhorst tvrdi da je alergijski rinitis usko vezan uz eozinofiliju, ali da je ima i kod nealergijskog vazomotornog rinitisa, iako znatno manje (65). On također upozorava na važnost funkcije sistema hipofiza-suprarenalna žlijezda s obzirom na eozinofiliju u krvi. Van Dishoeck je našao pozitivnu eozinofiliju u 51% od 250 bolesnika s kroničnim sinusitisom. Hansel je zato izradio metodu, po kojoj se eozinofilija gradiira u četiri kategorije, pri

čemu se uzima u obzir prisutnost i zastupljenost ostalih neutrofila (21). Pri tumačenju eozinofilije treba, dakle, uvijek biti na oprezu, jer i kod infekcije u nosu također može bris biti pozitivan, ali i maskiran povećanim brojem neutrofila. Naši nalazi pokazuju da treba uzeti u obzir još i mišljenje da je eozinofilija karakteristična ne samo za alergijsku reakciju nego da je ona odraz parasimpatikomimetičkog stanja u nosnoj sluznici, koje postoji za vrijeme alergijske atake, ali dakako, i nakon simpatetomije.

Bakteriološki pregled sluznice nosa. Bris iz nosa uzet je kod svih kunića neposredno prije simpatetomije i tri dana poslije nje, odnosno poslije izazivanja alergijskog rinitisa. Kunići su boravili pod posve jednakim uvjetima u zajedničkom kavezu, a bris iz nosa uziman je uz maksimalnu imobilizaciju, kako bi se izbjeglo vanjsko onečišćenje. Brisovi su nasađeni i dobivene kulture identificirane u bakteriološkom laboratoriju Pedijatrijske klinike Medicinskog fakulteta u Zagrebu (šef laboratorija: dr Ivo Babić). Za razliku od mikroskopskog pregleda brisa iz nosa, gdje su nalazi bili uglavnom izjednačeni, pa je bilo dovoljno nalaze prikazati grupno, kod bakterioloških nalaza dobivenih kulturom, postoje znatne varijacije unutar pojedinih grupa, pa ćemo zato životinje prikazati individualno (tabela II i III).

TABELA II
BAKTERIOLOŠKI PREGLED SLUZNICE NOSA KUNIĆA
KOD NEALERGIJSKOG VAZOMOTORNOG RINITISA

Kunić broj	Prije simpatetomije	Tri dana nakon simpatetomije
4	saprofitni koki	enterokok Esherichia Freundii
5	saprofiti	stafilokokus albus
6	stafilokokus albus	stafilokokus piogenes aureus Neisseria
8	stafilokokus albus streptokokus viridans	stafilokokus albus streptokokus viridans
9	stafilokokus aureus	stafilokokus piogenes aureus stafilokokus albus

Komentar. Na temelju bakterioloških nalaza koje smo dobili, nismo u mogućnosti da donosimo određene zaključke, jer je broj eksperimentalnih životinja daleko premalen da bi to dozvoljavao. Ipak nam taj nalaz daje poticaj na razmišljanje. Bogatija flora kod nealergijskog vazomotornog rinitisa nego kog alergijskog dozvoljava nam da postavimo pitanje, da li stoji na zdravim temeljima toliko spominjana sklonost se-

TABELA III
BAKTERIOLOŠKI PREGLED SLUZNICE NOSA KUNIĆA
KOD ALERGIJSKOG VAZOMOTORNOG RINITISA

Kunić broj	prije alergijske reakcije	poslije alergijske reakcije
3	bez promjena	bez promjena
7	bez promjena	bez promjena
10	saprofiti	stafilokokus albus

kundarnoj infekciji kod alergijske reakcije. Istina je da je i kod jedne i kod druge vrste osnovni faktor parasimpatikomimetička reakcija sa svim svojim posljedicama, kao što je to pokazao naš prvi eksperiment, ali se kod alergijske forme vjerojatno stvaraju još i izvjesni intermedijarni produkti, koji mijenjaju karakter sluzi i uvjetuju različitu sklonost prema sekundarnoj infekciji. Odgovor na gornje pitanje i njegovu primjenu u humanoj medicini dakako nije moguće dati na temelju ovog eksperimenta, pa se kao logički nastavak ovog razmatranja nameće zaključak da bi za pretraživanje trebalo upotrijebiti brojčano bogatiji materijal i da bi umjesto na pokusnim životinjama trebalo problem istraživati na ljudima. Kod ljudi nećemo imati mogućnost da se koristimo istom eksperimentalnom tehnikom kao kod kunića, jer artifičijalno izazivanje alergije i vazomotornog rinitisa predstavlja oštećenje organizma, pa se zbog etičkih razloga moramo odreći prednosti koje smo imali u eksperimentu kod životinja, tj. da smo raspolagali s jedinkama koje su imale posve sigurno alergijski ili nealergijski vazomotorni rinitis, dakle dvije grupe koje su nam služile za egzaktnu komparaciju. Zbog poznatih dijagnostičkih teškoća, kod čovjeka s alergijskim rinitisom nikad nismo sigurni ne radi li se tu istodobno i o nealergijskom vazomotornom rinitisu uzrokovanom nekim endogenim faktorom. Kod bolesnika pak, kojeg smo svrstali u grupu nealergijskih vazomotornih rinitisa uvijek postoji mogućnost da smo neki alergen previdjeli. Zbog tih razloga smo odlučili da među našim bolesnicima izaberemo stotinu osoba s verificiranom alergijom respiratorne sluznice i da ih usporedimo s podjednakim brojem zdravih kontrolnih osoba kod kojih smo detaljnom anamnezom isključili vazomotorni rinitis bilo koje geneze.

FLORA U NOSU KOD ZDRAVIH I ALERGIČNIH OSOBA

Izbor bolesničkog materijala. Bolesnički materijal stavila nam je na raspolaganje alergološka ambulanta Interne klinike Medicinskog fakulteta u Zagrebu, koja je ujedno i na uobičajeni način utvrdila dijagnozu. Svi bolesnici imali su uz tipičnu anamnezom pozitivne kožne testove na

inhalacione alergene, najčešće na elemente kućne prašine, bakterije i tekstil. Zdrave kontrolne osobe uzeli smo iz redova studenata. Kod njih nije izvršeno kutano testiranje alergenima i postoji slučajna mogućnost da se među njima našao pojedinac s vazomotornim rinitisom, premda se alergološkom anamnezom nastojalo isključiti svaku suspektnu osobu. Na taj nas je oprez ponukalo istraživanje koje je Franssen izvršio na 500 studenata i 240 medicinskih sestara (14). On tvrdi da je kod 30% našao alergijske manifestacije, od čega jednu trećinu na respiratornom traktu, dakle 10%. Ako se unatoč pažljivom izboru u našu kontrolnu grupu potkrao neki alergičar, smatramo da to procentualno nije moglo ozbiljno utjecati na dobijene rezultate. U obrađenom bolesničkom materijalu upadljiva je čestoća alergije na kućnu prašinu. Za to postoje tri objašnjenja. Prvo, kućnu prašinu možemo smatrati ubikvitarnom. Drugo, antigen za ispitivanje preosjetljivosti na kućnu prašinu komponiran je od nekoliko raznovrsnih elemenata od kojih svaki sam po sebi može biti alergen. Treće je profesionalni faktor (45). U rubrici »zanimanje« često ćemo kod alergičara naći zastupljena zanimanja kod kojih je radno mjesto takve prirode da je radnik izložen stalnoj inhalaciji prašine (npr. čistačice, domaćice, tekstilci). Nešto je veći broj bolesnika ženskog spola nego muškog (60 : 40) što na prvi pogled začuđuje, jer su u našoj sredini muškarci češće izloženi alergiziranju s obzirom na veći postotak zaposlenih radnika. Tu činjenicu možemo objasniti osjetljivijim i labilnijim neurovegetativnim sistemom ženskog organizma i velikom količinom alergena baš u nekim ženskim profesijama (kućna prašina kod domaćica i čistačica). S obzirom na životnu dob najveći dio bolesnika pripada srednjoj kategoriji. Zanimljiv je podatak o učestalosti istodobnog postojanja alergijskog rinitisa i bronhalne astme, odnosno kroničnog spastičkog bronhitisa – ukupno 26 takvih bolesnika. Iz anamneze tih bolesnika doznajemo da atake rinitisa dolaze često istodobno s astmatičkim napadom. Premda ne možemo tvrditi da etiopatogenezu astme uvijek treba tražiti u području alergije, gornji podatak pokazuje da tu mogućnost nipošto ne treba zanemariti. Kombinacija astme i alergijskog rinitisa i istodobnost njihovih ataka uopće nije činjenica koja bi trebala izazivati čuđenje, premda u literaturi o tome nema mnogo podataka. Vjerojatno je ta okolnost slabo poznata zbog toga što simptomi bronhalne astme po svojoj dramatičnosti dominiraju i odvrćaju pažnju od perifernih simptoma. Polazeći, međutim, s patofiziološke postavke o jedinstvu respiratorne sluznice, bit će nam posve razumljiv podatak do kojeg su došli Voorhorst i Vries na svojih 409 bolesnika s bronhalnom astmom: 50% tih bolesnika imalo je uz astmu i alergijski rinitis, dakle čak dvostruko više nego mi u našem materijalu (66).

Bakteriološki nalazi. Kod svih osoba istraživanje je ograničeno na mikroskopsku pretragu nosne flore. Za razliku od eksperimenata na kunićima, kod ljudi se iz razumljivih razloga nisu vršile histološke pretrage sluznice nosa. Bris iz nosa za bakteriološki pregled uzet je iz stražnjeg dijela nosnog kavuma, koji je u pravilu čišći od prednjeg dijela i teže

pristupačan onečišćenju manipulacijama samog bolesnika (npr. pri brisanju i čišćenju nosa). Mikrobiološka identifikacija izvršena je u Mikrobiološkom laboratoriju Dječje klinike Šalata u Zagrebu (šef: dr I. Babić). Uzimanje materijala iz nosa u pravilu nije vršeno za vrijeme atake alergijskog rinitisa, nego u slobodnom intervalu, jer zbog objektivnih teškoća nije bilo moguće skupiti dovoljan broj bolesnika s alergijom nosa manifestnom u času pregleda. Međutim, to i nije bio naš cilj, premda bi i taj podatak mogao biti zanimljiv. Za objekt našeg ispitivanja bilo je posve dovoljno odabrati sluznicu senzibiliziranu na neki alergen. Dapače, nalazi dobijeni izvan atake imaju svoju posebnu vrijednost u smislu egzaktnosti, jer hipersekrecija u nosu za vrijeme alergijske atake predstavlja moćan mehanički faktor, koji je u stanju da doslovno otplavi i ispere možebitnu floru nosa, pa tako ne bismo bili u stanju odgovoriti na pitanje, što treba pripisati egzogenim mehaničkim faktorima, a što endogenim, alergijskim. Prosuđivanje rezultata ipak je skopčano s velikim teškoćama, jer i kod klinički zdravih osoba postoji veliko kolebanje bakterioloških nalaza u nosu. To je i razumljivo jer funkcija nosa upravo i jest u tome da zadrži bakterije na ulazu u donje dišne putove. Zato je nemoguće poistovetiti nalaz bakterija u nosu s infekcijom. Tek nalaz bakterija ispod površine epitela mogao bi biti dokaz za infekciju sluznice, koja u normalnom stanju predstavlja neprolaznu barijeru za invaziju mikroba. Zato pozitivni nalaz brisa u nosu uvijek treba uzimati s rezervom i neko značenje mu pridavati tek uz dovoljan broj kontrolnih osoba pod istim uvjetima. Bris iz nosa je nasadivan redovito u roku od dva sata poslije uzimanja. Pronađena flora podijeljena je na dvije grupe: na patogenu i saprofitnu. Posebno se vodilo računa o broju kolonija. Uspoređujući rezultate bolesnika s florom zdravih osoba (tabela IV) dolazimo do ovih konstatacija:

TABELA IV

MIKROBIOLOŠKI NALAZI U NOSU KOD RINITIS ALERGIKE
I U ZDRAVIH OSOBA

		sterilno	saprofiti	patogeni
Alergičari	(99)	80 (80%)	10 (10%)	10 (10%)
Normalne osobe	(120)	30 (25%)	78 (65%)	12 (10%)

1. patogena flora zastupljena je u obim skupinama podjednako (10%);
2. saprofitna flora je kod alergičara zastupljena u svega 10% a kod kontrolne grupe u vrlo visokom postotku (65%);
3. sterilnih brisova bilo je kod alergičara 80% a kod zdravih osoba samo 25%!

Upadljiva je velika razlika u sterilnim nalazima u korist alergičnih bolesnika. Taj omjer je tako velik da bi bilo presmiono pripisati ga čistoj slučajnosti ili premalom broju pregledanih osoba. U tome nas podupiru i nalazi koje je dobio poznati protagonist bakterijske alergije Hlavaček ispitivanjem flore u nosu kod alergijskog rinitisa i kod rinitisa s infektivnim faktorom (23). U prvoj grupi imao je 26 bolesnika, od čega ih je 15 bilo sa sterilnim brisom nosa, a u grupi od 20 bolesnika sterilan bris je imalo samo šest osoba. Dakako da bi bilo presmiono donositi neke definitivne zaključke i tumačenja, odakle ta razlika, ali s teoretskog gledišta ipak možemo upozoriti na neke mogućnosti.

Komentar. Alergijski fenomen ima vrlo mnogo sličnosti s procesom imunizacije, premda naše današnje znanje ne može sa sigurnošću objasniti, zašto antitijela u jednom slučaju podižu stanje imuniteta, a u drugom izazivaju alergiju. Bez obzira na to, prihvatimo li tumačenje koje imunitetne reakcije smješta u humoralnu sredinu, a alergijsku uz tkiva, ne može se u tom drugom slučaju poreći mogućnost stjecanja izvjesnih imunitetnih osobina istodobno s alergijom na zajednički antigen. Dakle, treba pomisliti na mogućnost koegzistencije alergije i imuniteta na identične alergene u istom organizmu ili štaviše u istom šok-organu. Postoji osim toga i mogućnost da nebakterijalni alergen izazove stvaranje antibakterijalnih antitijela. Primjer za takvu mogućnost je upravo kućna prašina, koja je tako visoko zastupljena među našim bolesnicima. Kućna prašina naime nije jednostavna materija, nego je sastavljena od mnogih komponenata koje se talože u kućnoj sredini, pa i od ostataka od bakterija. Nije isključena mogućnost – premda za to nemamo dokaza – da dok neke od tih komponenata alergiziraju, druge mogu izazvati proces imunizacije. Spomenimo k tome još i iskustvo s anafilaktičnim šokom pri injiciranju heterogenih proteina, koje pokazuje da oni imaju na pojavu i tok nekih infektivnih bolesti obrambeni efekt, a ne pogoršavajući. Ta opće priznata činjenica iskorištena je u praktične svrhe i u kliničkoj primjeni je poznata pod imenom proteinske terapije, pa više nije potrebno trošiti riječi u svrhu njezina dokazivanja. Na kraju treba priznati da još uvijek ne možemo biti zadovoljni s rezultatima koje smo dobili na našim bolesnicima i kontrolnim osobama, jer su ti rezultati ipak samo odraz stanja na koje mi nismo utjecali a niti ga mogli nadzirati i dirigitirati njegov tok, nego smo se morali pomiriti s činjenicom da među našim bolesnicima postoje mogućnosti za najrazličitije varijacije s obzirom na intenzitet bolesti i vrstu alergena. Za stvaranje egzaktnijih prihvatljivih zaključaka svakako da predstavlja izvjesnu teškoću i alergija na bakterije, koja je pronađena kod gotovo jedne trećine bolesničkog materijala s kojim smo raspolagali. Uzimajući u obzir tu činjenicu, ne možemo poreći da kod tih bolesnika može uz alergiju postojati istodobno specifični imunitet prema bakterijalnoj flori koja igra ulogu alergena, premda vidimo da i kod individua alergičnih na bakterije također ima pojedinaca s inficiranim nosom. Nadalje, ne raspoložemo niti sa dovoljno sigurnih elemenata da bismo objasnili, zašto kod alergičara nalazimo u nosu jednaku

učestalost patogenih mikroba, dok postoji tako značajna razlika u saprofitnoj flori. Možemo pretpostaviti da uzrok treba tražiti u činjenici što je alergizirana sluznica nosa preplavljena obrambenim materijama i da je u stanju maksimalne angažiranosti u obrambenom smislu, dakle u situaciji u kojoj se lakše rješava saprofitne flore nego patogene koja oštećuje sluznicu – ali za tu pretpostavku nemamo dokaza. Da bismo izbjegli prigovorima koji su gore navedeni, i da bismo zadovoljili znanstvenim postulatima, bilo bi potrebno da alergiziranu sluznicu artificialno inficiramo kontrolirajući pri tome žestinu i vrstu infekcije i da zatim promatramo reagiranje sluznice u toku njezine borbe s infekcijom. Dakako da u tu svrhu ne možemo upotrijebiti ljudski materijal, nego ponovno moramo pribjeći eksperimentalnim životinjama. Kao i u svojim ranijim eksperimentima, i ovdje smo upotrijebili činčila kuniće od 2000 do 3000 grama težine, stare 6 do 12 mjeseci. Oni su u tu svrhu naročito pogodni zbog lake mogućnosti alergiziranja i relativno jednostavnog manipuliranja.

Treća eksperimentalna tema

INFICIRANJE ALERGIJSKOG RINITISA

Metoda. Eksperimentalni zadatak postavljen je ovako: najprije treba da životinje alergiziramo inaktivnim konjskim serumom i istim serumom izazovemo lokalnu alergijsku reakciju, a zatim moramo inficirati nosni kavum patogenim bakterijama i promatrati tok infekcije uspoređujući ga s kontrolnim životinjama. Ukupni broj od 45 pokusnih životinja podijelili smo u dvije grupe: prvu od 23 životinje, koju smo alergizirali i drugu od 22 životinje, koja nam je služila kao kontrolna grupa. Nakon završene alergizacije metodom koja je opisana u prethodnom eksperimentu, životinjama iz objiju grupa ukapavana je tri dana u svaku nosnicu emulzija koja je sadržavala u jednom kubičnom centimetru oko 100 milijuna ovih mikroba: stafilokokus piogenes aureus, hemofilus influence, pneumokokus i bacilus proteus mirabilis.

Za ovu vrst i količinu mikroba odlučili smo se na temelju ranijeg vlastitog iskustva i podataka iz literature. U pogledu pneumokoka bili smo na oprezu uzevši u obzir Harleyeve eksperimente na kuniću (22). On je našao da se životinja može senzibilizirati na pneumokoke i osim toga još na dva načina njihovim specifičnim antigenima. Kod intravenozne injekcije usmrćenih pneumokoka dolazi do senzibilizacije prema specifičnoj frakciji njihovih ugljikohidrata, kod aplikacije živih pneumokoka dolazi do senzibilizacije prema nukleoproteidnoj frakciji, a kod intradermalnog cijepljenja pneumokoka usmrćenih toplinom senzibilizacija je neovisna o ranije spomenutim. Dakako da bi svaki od ta tri načina senzibilizacije mogao utjecati na rezultate, pa zato ni pneumokoki, a niti ostali mikrobi nisu primijenjeni intradermalno ili intramuskularno, nego intravenozno a uz to smo nastojali da eksperiment završimo prije nego bi se mogao završiti proces senzibilizacije.

Za hemofilus influence treba naglasiti da je njegovo značenje u respiratornim infekcijama znatno. Prema van Dishoecku on se nalazi u 50% bolesnika sa sinuitisom, kako onih s alergijom, tako i nealergijskih, samo s tom razlikom što u kombinaciji s alergijom daje vrlo loše terapijske rezultate (62). To je bio razlog da smo i hemofilus influence uvrstili u eksperiment. Neki pak autori pridaju veliku važnost stafilokoku piogenesu aureusu. Husarek i Kürsten našli su ga u svojoj kazistici u 88,2% bilo u čistoj, bilo u miješanoj kulturi (25). Proteus mirabilis također se ubraja među patogene mikrobe, a uvršten je po savjetu bakteriologa koji nam je pripremao sojeve. Zanimljivo je da je takva kombinacija mikroba pogodovala razvitku hemolitičkog streptokoka: premda nije bio artificialno etabliran, a niti ga se moglo dokazati kod pokusnih životinja prije eksperimenta, on se nakon inficiranja gore spomenutim mikrobima spontano razvio kod sedam pokusnih životinja, a istodobno s njegovom pojavom nestale su iz flore nosa sve četiri upotrijebljene vrste mikroba. Objasnjenje za tu pojavu treba vjerojatno tražiti u imunološkim procesima, no taj problem premašuje okvir ove radnje.

Pri aplikaciji mikroba nastojali smo namjerno izazvati samo infekciju blaže forme jer bi kod teških forma došlo ne samo do opasnosti po život životinja (ipak su dvije životinje iz kontrolne grupe uginule) nego bi promjene na sluznici bile odviše duboke da bi bilo moguće istraživanje finijih nijansa, naročito u histološkoj slici. Kod ekstremnih promjena nemoguće bi bilo graduirati i komparirati nalaze. Pretrage su vršene prije eksperimenta i poslije njega. Kunićima obiju grupa najprije je pretražena nosna flora nakon alergiziranja prve grupe, a zatim nakon inficiranja svih životinja, i to u tri navrata u razmacima od 5 dana. Uzastopni bakteriološki pregledi trebali su pokazati dinamiku reagiranja sluznice. Na kraju eksperimenta neposredno nakon posljednjeg bakteriološkog pregleda, životinje su žrtvovane i njihova je nosna sluznica histološki pretražena. Na taj način je klinički nalaz mogao dobiti i svoju histološku potvrdu.

Bakteriološki nalazi. Bakteriološki nalazi svrstani su u dvije tabele. U tabeli V prikazana je flora nosa prije inficiranja a u tabeli VI nakon inficiranja nosnog kavuma (5, 10 i 15 dana nakon inficiranja). Iz tabele V je vidljivo da je prije inficiranja nosni kavum bio sterilan u polovine

TABELA V
MIKROBIOLOŠKI NALAZI U NOSU KUNIĆA PRIJE INFICIRANJA

		sterilno	saprofiti	patogeni
Alergizirani	(23)	6	19	0
Kontrolni	(22)	10	20	2

TABELA VI

MIKROBIOLOŠKI NALAZI U NOSU KUNIČA POSLIJE INFICIRANJA

		sterilno	saprofiti	patogeni	uginulo
Alergizirani	(23)	25	20	24	0
Kontrolni	(22)	14	28	19	2

kontrolnih životinja, a kod alergiziranih samo u trećine životinja. Usporedimo li ovaj nalaz s tabelom VI koja prikazuje floru nosa nakon inficiranja, vidjet ćemo da je tu omjer sterilnih briseva kod obje grupe upravo suprotan nego prije inficiranja, a to je već podatak koji može pobuditi našu pažnju. Pokušamo li pratiti ponašanje alergizirane sluznice u toku čitavog eksperimenta, uz istodobnu komparaciju s kontrolnim životinjama, vidjet ćemo da se nakon alergiziranja mogla u nosu naći samo saprofitna flora, i to nešto manja po količini nego kod kontrolnih životinja (kod ovih su bile dvije životinje s patogenom florom). Nakon inficiranja uginule su dvije kontrolne životinje (od senzibiliziranih ni jedna), a broj sterilnih briseva je kod njih znatno opao (ispod jedne četvrtine), dok je kod senzibiliziranih broj sterilnih briseva porastao i nadmašio kontrolne životinje. Iz toga bi se možda moglo zaključiti da je alergizirana sluznica tek nakon infektivnog stresa mobilizirala svoje obrambene snage, i to znatno efikasnije nego sluznica kod kontrolnih životinja, gdje su čak dvije životinje uginule. Uza svu potrebnu opreznost i kritičnost, jedino moguće tumačenje ovakvog ponašanja alergiziranog tkiva može se nazreti u povišenim imunobiološkim kvalitetama alergiziranog tkiva. Dokazivanje gornje pretpostavke premašivalo bi svrhu ove radnje koja ima za cilj samo da ispita ispravnost tvrdnje, da li je alergizirana sluznica sklonija infekciji od nealergizirane, pa tu pretpostavku ovdje ostavljamo samo kao nabačenu temu koja bi vrijedila da se s njom temeljitije pozabavimo.

Histološki nalazi. Za razliku od bakterioloških pretraga koje su trebale pokazati dinamiku bioloških zbivanja u sluznici nosa, histološki nalazi pokazat će efekt tog procesa u dubini sluznice, i to u jednom trenutku koji je odabran prije nego je došlo do reparatorne faze bolesti. Korist i prednost koju nam pruža histološka tehnika pred kliničkim promatranjem i bakteriološkim pretragama je veći stupanj egzaktnosti, izbjegavanje tehničkih grešaka i opasnosti odviše subjektivnih ocjena. Nedostatak te metode je u nepostojanju razrađenih kriterija po kojima bi se mogli klasificirati histološki preparati i u činjenici da histološki rez pogađa samo vrlo uski segment nosnog plašta pri čemu se mogu mimoći regije s izraženim promjenama. Posljednji nedostatak nastojali smo izbjeći na taj način da smo kod svake životinje pregledali tri reza s raznih mjesta nosnog kavuma: sa septuma, školjke i lateralne stijenke. Time je postignuta znatno veća vjerodostojnost nalaza i ujedno maksimalno što je

bilo u granicama raspoloživih financijskih mogućnosti. Što se tiče drugog problema, kriterija za klasifikaciju preparata, nije bilo na raspolaganju velikog izbora. Ako uzmemo u obzir da se u eksperimentu radilo o inzultima blagog stupnja i da jedna vrsta tkiva reagira u uskim granicama svojih mogućnosti, na podjednaki način na raznovrsne inzulte, a gotovo na istovrsne, trebalo se u ocjenjivanju bazirati na onim suptilnim razlikama koje se minucioznim promatranjem moglo uočiti. Pri tome je trebalo apstrahirati one promjene koje su bile direktna posljedica alergijske reakcije i zadržati se samo na onima koje su ukazivale na upalu i infekciju.

Opći utisak je da su sve upalne promjene blage i subakutne, a sastoje se u infiltraciji upalnih stanica u inače relativno nepromijenjenoj sluznici i submukozi. Dominiraju plazma-stanice, na drugom mjestu su limfociti, a na trećem neutrofil. Eozinofilnih stanica nalazimo kod alergiziranih životinja znatno više nego kod kontrolnih. U tumačenju njihove uloge potreban je stanoviti oprez o čemu je bilo govora u II eksperimentalnoj temi. Nećemo pogriješiti ako ih ne tretiramo kao upalne stanice i ako ih u obje grupe životinja apstrahiramo u ukupnoj sumi stanica. Nigdje nisu nađene jake i gnojne upale s apscesima, nekrozama, granulacijama niti bujanjem veziva (slika 10. i 11.). Upalne stanice nisu bile na preparatima podjednako raspoređene, pa je sve preparate (ukupno 136) trebalo pretražiti u cijelom njihovu opsegu kako se ne bi previdio kakav značajniji nalaz. Histološka pretraga pokazala je, nadalje, da u grupi alergičara znatno prevladava eozinofilija u tkivu, koja je tipična za vazomotornu reakciju. Broj limfocita je podjednak, neutrofilnih ima više kod kontrolne grupe, dok su plazma-stanice češće zastupljene kod alergiziranih životinja. U ocjenjivanju uloge pojedinih vrsta stanica u subepitelnom sloju treba imati u vidu mogućnosti njihove fiziološke prisutnosti. Podvinec doduše tvrdi (43) da upravo relativno malen broj limfatičkih elemenata igra važnu ulogu kod postanka respiratorne alergije, međutim Gušić upozorava (16) upravo na suprotnu činjenicu, na priličan broj limfocita, plazma-stanica, histiocita pa i čitave limfatične folikule u subepitelnom sloju, koje nikako ne treba smatrati upalom kao što se to često čini. Imunolozi smatraju da limfociti predstavljaju stanice prekursore, od kojih nastaju stanice koje stvaraju antitijela, da mali limfociti predstavljaju osnovne stanice koje sudjeluju u reakcijama kasne preosjetljivosti i da su plazma-stanice glavni producenti antitijela. Iz svega ovoga možemo zaključiti da je povećani broj plazma-stanica u alergiziranom tkivu isto tako razumljiv kao i povećani broj eozinofila, iako njih nalazimo i kod vazomotornih rinitida nealergijske etiologije, a isto tako nećemo pogriješiti ako limfocite u društvu s neutrofilnim leukocitima, koji pravladavaju u kontrolnoj grupi, smatramo znakom upalne reakcije. Uspoređujući histološke rezultate s bakteriološkim možemo konstatirati izvjesnu podudarnost. Ipak, dok bakteriološki nalazi pokazuju pojačani otpor alergiziranih kunića prema infekciji, u histološkim nalazima se takva diferencija javlja u vrlo diskretnim dimenzijama.

Četvrta eksperimentalna tema

SUDBINA INFEKCIJE U ALERGIZIRANOM ORGANIZMU

Problem. U prošlom poglavlju istražili smo ponašanje infekcije na alergiziranoj sluznici nosa, i dakako, nameće se pitanje, kako je s odnosom alergije i infekcije kod drugih vrsta tkiva, izvan nosa. Premda ovo pitanje prelazi okvir naše disertacije, znanstveni interes nas potiče da bar letimično pokušamo povući paralelu između sluznice nosa i drugih tkiva. Promatramo li ponašanje alergijskih manifestacija na koži, lako ćemo doći do konstatacije da na ovom terenu alergija pogoduje razvitku sekundarne infekcije. Tipični primjer za to je ekcem. Tu, međutim, treba uzeti u obzir da je integumentum komune, a naročito epitel kože, po svojoj funkciji i po svom položaju na periferiji organizma u prvom redu mehanička, a ne imunobiološka zaštita organizma od infekcije, a ekcem, kao što je poznato, narušava upravo mehanički faktor te zaštite. Kod alergijskih pojava u sluznici nosa epitel ostaje intaktan, pa tu prema tome ne postoji opasnost od direktnog ulaza infekcije zbog defekta zaštitnog plašta. Prema tome, želimo li ispitati ponašanje nekog alergiziranog tkiva prema infekciji u imunobiološkom smislu, trebamo posegnuti za drugim organima i dubljim strukturama.

Metoda. Upotrijebili smo kuniće koje smo alergizirali na konjski serum već ranije opisanim načinom. Inficirali smo ih istodobno na dva načina: intrakutanom i intravenoznom injekcijom suspenzije bakterija. Suspenzija je u 1 kubičnom centimetru sadržavala 10,000.000 klica, i to streptococcus zoepidemicus, staphylococcus aureus i pseudomonas aeruginosa.

Ovu suspenziju stavio nam je na raspolaganje Mikološki laboratorij Katedre za mikrobiologiju Veterinarskog fakulteta u Zagrebu (šef. prof. dr M. Hajsig), po čijem savjetu je također izvršen izbor i koncentracija bakterija. Želja nam je bila da ne dođe do drastične infekcije ili čak sepse. Na raspolaganju smo imali 8 kunića, od kojih smo četiri alergizirali inaktiviranim konjskim serumom, a ostala četiri su nam poslužila kao kontrolna grupa. Svim pokusnim životinjama injicirana je infekciozna suspenzija u aurikularnu venu i intrakutano na trbuhu. Osim toga, svim životinjama je istodobno injicirano intrakutano pola kubičnog centimetra konjskog seruma da bismo provjerili postignutu alergizaciju. Alergizirane životinje imale su sve odreda slijedećeg dana jasno izražen Arthusov fenomen na mjestu injekcije seruma, dok ga kontrolna grupa nije imala. To je bio dokaz da je alergizacija nesumnjivo postignuta.

Rezultati. Na mjestu intradermalne aplikacije mikroba kod svih se životinja u toku od 2 do 3 dana javio oveći upalni infiltrat, koji se ni makroskopski ni po kliničkom toku nije razlikovao između obiju grupa. Niti s obzirom na intravenozno apliciranje nije bilo razlika koje bismo zapazili kliničkim promatranjem. Nakon 6 dana životinje smo žrtvovali i histološki pretražili pluća i jetra (bojanje hemalaun-eozinom). Na taj

smo način htjeli utvrditi do kakvih je znakova infekcije došlo u tim organima, i postoji li između obiju grupa kunića neka razlika u ponašanju prema razvitku infekcije. Kratak rok od infekcije pa do žrtvovanja životinja praktički je isključio mogućnost specifične senzibilizacije na upotrijebljene mikrobe i njezin utjecaj na sudbinu infekcije.

Histološka pretraga pluća i jetre (slika 12) pokazala je kod tri kunića iz kontrolne grupe brojne nakupine upalnih stanica, pa i čitave granulome, koji su bili nesumnjivi dokaz za uspješni razvitak infekcije u organizmu. Naprotiv, kod alergiziranih životinja nije bilo tako očitih znakova agresije infektivnih agensa. Kod dviju životinja bilo je u jetri neznatnih znakova infekcije u formi manjih infiltrata upalnih stanica.

Zanimljivo je ove nalaze uporediti s antistreptolizinskim titrom istih ovih životinja, koji nam je izradio Republički zavod za zaštitu zdravlja sa standardnim eritrocitima kunića. Kod svih životinja nalaz je bio negativan, što bi značilo da se otpornost alergiziranih životinja ne može pripisati specifičnim antitijelima. Tek ponovljeno titranje s eritrocitima ovna pokazalo je kod jednog od alergiziranih kunića titar 12, dok su svi ostali, uključivši i kontrolne životinje, bili negativni. Svjesni smo da se na temelju premalog broja životinja ne mogu donositi pouzdani zaključci. Ovaj posljednji eksperiment i nema tu namjenu, on je trebao samo površno i trenutno utražiti jedan znanstveni interes i biti prvi korak u daljnjem nastojanju u tom pravcu istraživanja.

DISKUSIJA

U eksperimentalnom dijelu ove radnje bio je već svaki eksperiment popraćen komentarom koji je imao zadatak da utvrdi njegovu vrijednost i nedostatke. Preostaje nam dakle samo još da konfrontiramo dobijene rezultate s dosadašnjim nazorima, da ih povežemo u logički slijed i da na kraju formiramo zaključke. U uvodnom dijelu je istaknuto da u stručnoj literaturi gotovo i nema razilaženja u pitanju: da li je alergizirana podloga u nosu sklonija razvitku sekundarne infekcije od nealergizirane. Gotovo beziznimno svi autori koji se bave tim problemom daju potvrđan odgovor. Tako npr. Shambaugh misli da se 90% kroničnih rinitisa razvija na alergičnoj podlozi (56). Fox i Harned su bakteriološki ispitivali kod alergičara maksilarni sinus i za razliku od zdravih individua uvijek u njima našli mikrobe (streptokok, stafilokok, Friedländerov bacil, difteroid). Vodeći evropski rinolog Van Dishoeck naročito inzistira na ulozi alergije u infekcijama nosa i sinusa. On iznosi podatak da je među 255 bolesnika s nosnom alergijom našao 64,3% sa sinuitisom. On nije našao bakteriološke razlike između alergičnih i nealergičnih bolesnika, pa zaključuje iz toga da nepovoljni klinički tok treba pripisati postojanju alergijskog supstrata. Pri tome se poziva na slične statistike drugih autora, koje se kreću od 10 do 89%. Značajno je da ova golema razlika između pojedinih autora ovisi o dijagnostičkoj metodi sinuitisa. Do brojke od

89% došlo se na osnovi rendgenskih snimaka, a do 10% na osnovi punkcije, pa se zbog toga ne možemo oti zaključku da je često smatrano sinuitisom alergijsko koprenasto zasjenjenje.

Dakako da ne možemo poreći vrijednost svih tih zapazanja, kao niti iskustvo njihovih autora, ali možemo upozoriti na činjenicu da sklonost alergizirane podloge prema infekciji često baziraju samo na koincidenciji infekcije i alergije, ne vodeći dovoljno računa o tome da li je alergija ovdje uistinu primarna, a infekcija sekundarna. Također postoji velika mogućnost da se uzrok zamijeni s posljedicom ako se odnos infekcije prema tkivu alergiziranom na mikrobne alergene i na alergene drugog porijekla ne proučava svaki za sebe. Dok nam sterilni nos kod alergijskog rinitisa može biti dokaz u prilog tvrdnji da je alergični teren otporan prema infekciji, obratno, bogata flora u nosu alergičara ne bi nam mogla dati objašnjenje: da li je tu infekcija sekundarna ili je ona bila primarna, pa tako niti dati dokaza da je alergizirana podloga sklonija infekciji.

Uvijek treba misliti i na mogućnost da latentna alergija postaje manifestnom pod utjecajem takvog stresa kao što je infekcija. I konačno, kliničko nas iskustvo uči da razne vrste vazomotornog rinitisa svakako treba razmatrati odvojeno s obzirom na odnos prema infekciji. To tvrdimo zato jer smo osvjedočeni da se npr. sezonska alergija drugačije odnosi prema raznim infekcijama nego trajnija, nesezonska. Posebno ovdje ističemo važnost izdvajanja nealergijskog vazomotornog rinitisa od alergijskog, što je doduše koji put vrlo teško, ali neophodno kako ne bismo u svojim zaključcima došli do zabluda, jer se imunobiološko stanje sluznice kod vazomotornog rinitisa nealergijske prirode bitno razlikuje od alergizirane sluznice. Iz svega ovoga vidimo kako je lako upasti u zabludu pri generaliziranju ili površnom interpretiranju statističkih podataka o koincidenciji alergije i infekcije. Da je sve to i od praktične važnosti nije potrebno posebno dokazivati, jer se bez poznavanja tih odnosa ne može ni zamisliti etiološka terapija.

Promatrajući ponašanje sluznice prema infekciji mogli smo opaziti razne varijacije s obzirom na vrstu vazomotornog rinitisa. Kod sezonskog alergijskog nikada nismo vidjeli superponiranu infekciju. Ovdje moramo upozoriti da se peludna hunjavica na prvi pogled ne razlikuje od hunjavice virusne etiologije u početnom stadiju i da termin »rinitis« po svom značenju ustvari ne odgovara činjeničnom stanju, nego navodi na stramputicu svojim dočetakom, koji upućuje na proces uplanog karaktera. Kod nesezonskog alergijskog rinitisa opažamo slučajeve sa znakovima infekcije, ali samim pregledom ne možemo utvrditi da li je tu alergija primarna.

Istini za volju treba priznati da su rinolozi svojom terminologijom pa i pogrešnim stavom često puta uzrok da se alergija nosa tretira kao infekcija bez ikakve stvarne potrebe. Bolesnik koji se žali na začepljenost nosa, obilnu sekreciju, pritisak u glavi pa i glavobolje, koji troši 5-6 maramica dnevno, a kod pregleda ima nos pun sekreta i rendgenološki zasjenjenje paranasalnih sinusa, lako će od rinologa dobiti etiketu »rhino-

sinuitis chronica« i dalje biti liječen kao slučaj infekcije, premda nema baš nikakvog dokaza da se uistinu radi o infekciji respiratorne sluznice. Dapače, bakteriološka pretraga nosa kod takvih vazomotornih promjena često će pokazati da je nos sterilan, ali će alergološko ispitivanje i detaljna anamneza pokazati da se radi o alergiji. Međutim, ni nova dijagnoza »rhinitis ili rhinosinuitis allergica« često put bolesniku neće biti od naročite koristi, jer je tradicija u medicini tako jaka da se često iz samog termina izvode zaključci koji nemaju osnova. U ovom slučaju nastavak -itis u dijagnozi upućuje na upalu i premda prave upale zapravo nema mnogog liječnika navodi na antiupalnu pa čak i antibiotsku terapiju.

Kod vazomotornog alergijskog rinitisa dužeg trajanja, gdje je uslijed vazomotornih perturbacija došlo do anatomske promjene u nosnom kavumu, naročito u slučajevima gdje se razvila polipoza, često vidamo infekciju. Premda je Podvinec mišljenja (43) da nema stvaranja polipa bez kroničnog upalnog podražaja na sinusnim ostijima, mi bismo ovdje čak mogli koncedirati razvitak infekcije na alergiziranoj podlozi uz prisutnost polipa. Samo, ovdje ne smatramo da je infekciji pogodovala alergija kao takva, nego mehanički uvjeti koji su nastali razvitkom polipoze na alergičnoj osnovi. Polipozne tvorbe svojom opstrukcijom sinusnih ostija stvaraju uvjete za retenciju sekreta u njima i za nedovoljnu ventilaciju, pa tako sekundarno pogoduju razvitku infekcije u sinusima. Možda i nije potrebno da promjene dosegnu stupanj polipoze, jer takve uvjete u sinusima može izazvati već i trajnija opstrukcija ostija zbog hipertrofije sluznice, pa i edem uz poremećeni rad cilija (33). Ako s tog stanovišta promotrimo statistike o čestim slučajevima infekcije kod alergije, neće biti potrebno posizati za spekulativnim postupcima u objašnjavanju, kako može kod alergije doći do infekcije uza svu prožetost tkiva obrambenim ili reaktivnim materijama.

Na kraju, da u skladu sa svojim eksperimentima i kliničkim promatranjima rezimiramo vlastito gledište o odnosu infekcije i pojedinih alergijskih stanja. Ako vazomotorne rinitise podijelimo na tri grupe: na alergijski koji nastupa u atakama, kao što je peludna hunjavica, zatim alergijski nesezonski koji ima trajniji karakter, i treće, vazomotorni nealergijski, kao što je onaj uzrokovan neurovegetativnim disbalansama, moći ćemo konstatirati slijedeće: Kod peludne hunjavice pojava infekcije ravna je nuli. Kod nesezonskog alergijske prirode, naročito s hiperplastičkim promjenama i opstrukcijom sinusnih ostija, naći ćemo od slučaja do slučaja infekciju u sinusima, iako rijetko. Kod treće forme, kod nealergijskog vazomotornog rinitisa, pojavu infekcije u nosu i sinusima naći ćemo najčešće.

Za te različite odnose smatramo bitnim faktorima trajanje, reverzibilnost i alergijsku etiologiju vazomotornog rinitisa, jer o njima ovisi stupanj anatomske i funkcionalne lezije sluznice, koje stvaraju uvjete za razvitak infekcije. Između dviju ataka alergijske hunjavice povratak nosne sluznice normalnim anatomskim i funkcionalnim uvjetima brz je i potpun, a osim toga je i za vrijeme same atake mogućnost penetracije

mikroba u sluznicu smanjena zbog hipersekrecije i kihanja koji ih promptno odstranjuju iz nosa. Kod trajnijeg alergijskog rinitisa razvitku infekcije može pogodovati u prvom redu opstrukcija sinusnih ostija uslijed edema ili hiperplastičkih promjena, zatim uslijed poremećenog rada cilija, promjene viskoziteta, a možda i promjene u pH.

Uloga alergijske etiologije može pružiti objašnjenje za različito ponašanje alergijskog i nealergijskog vazomotornog rinitisa prema infekciji u onim slučajevima, gdje su anatomske i funkcionalne lezije gotovo posve identične, pa u njima ne možemo naći nikakav putokaz.

Uzevši u obzir današnje stanovište koje dominira u struci, ovaj zaključak je svakako novitet koji prodire u srž problema. Jedino slično stanovište u svjetskoj literaturi iznijeli su prije desetak godina talijanski autori Clerici i Teatini (60). Oni kategorički tvrde da prisutnost nosne alergije može priječiti razvoj kronične infekcije u nosu, priznajući pri tome da ima vrlo malo eksperimentalnih podataka za taj njihov aspekt. Oni pokušavaju svoj nazor objasniti na slučaju alergije na kućnu prašinu i daju dvije teorije. Prva upozorava na mogućnost da nebakterijalni alergen izazove stvaranje antibakterijskih antitijela, jer kućna prašina nije jednostavna materija nego sastavljena od mnogih komponenata, pa i od ostataka bakterija. Druga je mogućnost istodobna koegzistencija imuniteta i stanja alergije na identične antigene u istom organizmu. Ova hipoteza izgleda neobična u prvom momentu, ali se treba podsjetiti da naše današnje znanje ne može objasniti ni to zašto antitijela u jednom slučaju izazivaju alergiju, a u drugom podižu stanje imuniteta, premda malo tko sumnja u tu mogućnost.

Praktičke konzekvencije iz gornjih zaključaka možemo provesti u području terapije i prevencije alergije i infekcije. Kad bi postojala sklonost alergične sluznice nosa prema infekciji, bilo bi potrebno kod alergijskih ataka, izazvanih i nebakterijalnim alergenima, bolesnika preventivnim mjerama (antibiotici, izolacija, bolovanje) zaštititi od infekcije, a kod pojave infekcije na takvom terenu terapiju u etiološkom smislu usmjeriti u prvom redu na alergiju. Ne postoji li takva sklonost, prevencija bi bila suvišna, a u slučaju koincidencije alergije i infekcije, posljednju bi trebalo tretirati kao bolest za sebe. Dakako da se to ne odnosi na one slučajeve, gdje postoji obratni odnos tj. kada infekcija provocira alergijske napade, kao što je to npr. kod nekih slučajeva bronhalne astme.

Antibiotska terapija je u principu indicirana u onim kombinacijama alergije s infekcijom, kod kojih klinički tok ili anamneza govore da je riječ o infekciji koja svojim mikrobima ili njihovim produktima igra ulogu alergena. Antibakterijska terapija bit će indicirana i u onim slučajevima gdje bakterije i njihovi produkti nisu alergeni, ali narušavanjem obrambenih barijera organizma, koji inače ima dispoziciju za alergiju, stvaraju uvjete da se latentna alergija manifestira. Najčešći takvi slučajevi bit će astmatičari s infekcijom u nosu, sinusima ili bronhima, koja prethodi alergijskim atakama.

Bez efekta će biti antibakterijska terapija kod alergijskog vazomotornog rinitisa nakon preboljele gripe ili nekog drugog infekcijskog rinitisa, gdje više nema mikroorganizama, i gdje su oni u toku infekcije samo odigrali ulogu provokativnog faktora alergijskih pojava. Ovdje je bez važnosti, radi li se o bakterijskom ili nebakterijskom alergenu.

Kod dokazanog fokusa, naročito kod tonzila ili paranazalnih sinusa, koji su uzrok alergijskim manifestacijama, a također i kod sumnje na fokus, antibakterijska terapija ima za cilj da likvidira fokus, ali u takvim slučajevima često će biti efikasna jedino operativna terapija.

Nije indicirana antibakterijska prevencija akutnog sezonskog alergijskog vazomotornog rinitisa, premda se u tome dosta griješi, jer prema našem kliničkom iskustvu ovdje, u momentu atake, bakterije u nosu ne mogu igrati nikakvu patogenu ulogu, a ne postoji ni opasnost od sekundarne infekcije. U tim slučajevima, naročito u slučaju peludne hunjavice, terapija antibioticima je čak i kontraindicirana, jer se njihovom aplikacijom organizam, već i inače sklon alergijskim manifestacijama, izlaže opasnosti senzibilizacije na novi alergen, u ovom slučaju antibiotik. Poznato je da antibiotici po svojoj strukturi i biološkom ponašanju imaju u pravilu svojstva vrlo aktivnih alergena. Lokalnu aplikaciju antibiotika u formi kapljica, spreja ili aerosola u takvim slučajevima treba čak smatrati krupnom greškom, jer se u toku takvih postupaka potencijalnim alergenom atakira upravo alergizirani teren, a alergeni obično najprije senzibiliziraju ona tkiva s kojima najprije dolaze u kontakt.

U skladu s Pirquetovim i Mayerhoferovim učenjem trebalo bi u antimikrobnoj terapiji vidjeti adjuvantno sredstvo alergijskoj reakciji, koja po njihovu mišljenju predstavlja suštinu borbe organizma protiv infekcije. Premda se ne moramo složiti s tako ekstremnim shvaćanjem o suštini zaraznih bolesti, ipak moramo dozvoliti mogućnost da alergijske reakcije na bakterijske alergene, ukoliko nisu prežestoke, treba ocijeniti pozitivno s terapeutskeg stanovišta.

ZAKLJUČCI

1. Alergija tkiva u imunobiološkom smislu ne protežira razvitek infekcije.
2. Sluznica nosa kod peludne hunjavice pokazuje povišenu otpornost prema infekciji.
3. Kod nesezonskog alergijskog rinitisa bez produkata hiperplazije i opstrukcije sinusnih ušća ne postoji povećana sklonost sluznice nosa i sinusa prema infekciji.
4. Kod nealergijskog vazomotornog rinitisa infekcije u nosu i sinusima su češće nego kod zdravih osoba.
5. Kod alergijskih zbijanja u nosu mogućnost infekcije raste sa stupnjem anatomskih i funkcionalnih lezija sluznice.
6. Stupanj anatomskih i funkcionalnih lezija kod alergijskog rinitisa proporcionalan je s trajanjem i učestalosti ataka.

7. Ključni položaj u nastajanju anatomskih i funkcionalnih lezija kod alergijskog rinitisa ima opstrukcija nosa i sinusa zbog edema i produkata hiperplazije.

8. Mikrobi mogu igrati ulogu alergena ali i provocirati alergiju prema nebakterijalnim alergenima.

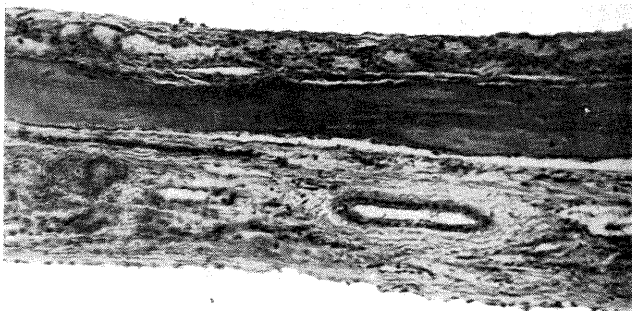
9. Antibiotička terapija i prevencija, naročito lokalna, kontraindicirana je kod sezonskog alergijskog rinitisa.

10. Antibiotička terapija može biti indicirana u alergijskim zbivanjima onda ako postoje indicije da mikrobi igraju ulogu alergena ili provokatora alergije na nebakterijalne alergene.

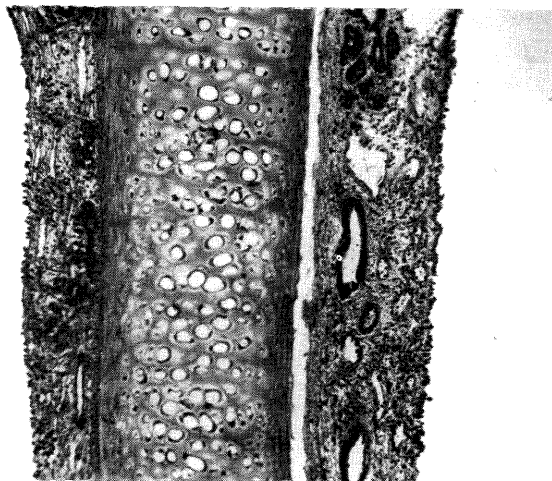
L I T E R A T U R A

1. *Arthus, M.*: De l'anaphylaxie à l'immunité, Paris 1921.
2. *Banić, S.*: Revue d'Immunologie, 17:135, 1953.
3. *Bordet, P.*: Acta allerg., Suppl. III, 91, 1953.
4. *Cooke, R. A.*: Allergy in Theory and Practices, 445, Philadelphia 1947.
5. *Danilović, V.*: Medicinska revija 16:5, 1966.
6. *Danilović, V. i Verbić, N.*: Arhiv Srpskog lekarskog društva 12, 1952.
7. *Doerr, R.*: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie (von Bethe Bermann), 650, 1929.
8. Citirano prema Otolaringologiji A. Šercera, I dio, Propedeutika 469, Zagreb 1951.
9. *Dujardin, B. et Decamps, N.*: Ann. de Derm., 6:725, 1925.
10. Citirano po Spužić-Daniloviću: Alergija i alergijske bolesti, str. 99, Beograd-Zagreb 1957.
11. *Đurišić, M. i Nešković, P.*: Glas SAN, 1951.
12. *Findeisen, D. G. R. und Wiedmann, A.*: Archiv für Physik. Therapie 112, Leipzig, 1964.
13. Citirano prema *Krajini Z.*: Rhinitis vasomotoria, Rad JAZU 323, str. 151.
14. *Franssen, M. G. C.*: Enige aspecte van de sinusitis, Leiden 1956.
15. *Goodman, S. and Gilman, A.*: The pharmacological Basis of Therapeutics, New York 1955.
16. *Gušić, B., Femenić, B. i Krajina, Z.*: Radovi Medicinskog fakulteta u Zagrebu 7:24, 1959.
17. *Gušić, B.*: Liječ. vjesnik 61:585, 1939.
18. *Gušić B.*: Rad JAZU 346, 1967 (Utjecaj hladnoće na resp. sluznicu).
19. *Gušić, B.*: Rad JAZU 346, 1967 (Utjecaj cementne prašine na gornje dišne putove).
20. *Gušić, B.*: Acta OL 183:59, Stockholm 1963.
21. *Hansel, F. K.*: Clinical Allergy, St. Louis 1953.
22. Citirano prema *Podvinec, S.*, Simposion o alergiji, str. 159, JAZU, 1952.
23. *Hlavaček, V.*: Rapports du VII congrès intern. d' ORL, Paris 1961.
24. *Hubert, A.*: Med. pregled 9:303, 1951.
25. *Hussarek, M. und Kürsten, H.*: Z. Laryng Rhinol. 36:546, 1957.
26. *Kallós, P.*: Fortschritte der Allergielehre, S. Karger, Basel-New York 1949.
27. *Koch, R.*: Deutsche med. Wochenschrift 101, 1891 (citirano prema Spužiću, vidi lit. 58).
28. *Kogoj, F.*: O alergiji, Simpozion o alergiji, JAZU, Zagreb 1952.

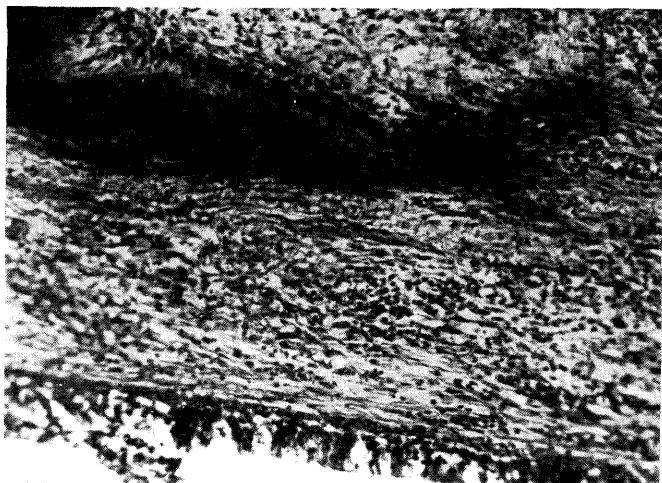
29. *Krahl, A.*: Archiv HNO 63, 96.
30. *Krajina, Z.*: Rad JAZU 323, Zagreb 1961.
31. *Krajina, Z.* and *Poljak, Z.*: Acta ORL 53:116, Stockholm 1961.
32. *Krajina, Z.* et *Poljak, Z.*: Journal française d'ORL 10:245, Lyon 1961.
33. *Krajina, Z.* i *Poljak, Z.*: VIII ORL kongres Jugoslavije, Obrid 1968 (Zbornik, str. 293).
34. *Lavergne, V.*: Allergie et anergie en clinique, Dom Paris 220, 1931.
35. *Letterer, E.*: Acta allergologica, Suppl. III, 79, 1953.
36. *Magrassi, F.*: Folia allerg. 4:175, Roma 1957.
37. *Markow, H.*: Food Allergy, N. Y. St. J. Med. 56:1454, 1956.
38. *Mayerhofer, E.* i *Dragišić, B.*: Pedijatrija II, Zagreb 1949.
39. *Melchior, R.*: Acta ORL Belgica 4:7, 1950.
40. *Metalnikow, W.*: Zeitschr. Immunforsch. 77:488, 1932.
41. *Mittermeier, R.*: Rapports du VII congrès international d'ORL, Paris 1961.
42. *Pirquet, C.*: Münch. med. Wochenschrift 1457, 1906 (citirano po Spužiću, vidi lit. 58).
43. *Podvinec, S.*: Simposion o alergiji, JAZU, Zagreb 1952.
44. *Poljak, Z.*: Znanstveni sastanak alergologa Jugoslavije, Maribor 1968.
45. *Poljak, Z.*: I bugarski ORL kongres, Sofija 1968.
46. *Poljak, Z.*: Simpozijum otorinolaringologa Jugoslavije, Arandelovac 1967.
47. *Radosavljević, A.*: Glas SAN 5, 1950.
48. *Radosavljević, A.* i *Spužić, V.*: Arhiv SLD 5, 1929.
49. *Reilly, J.*: C. R. Soc. Biol. 148, 1374, 1954 (s pregledom literature).
50. *Ristić, L.*: Acta allergol. 7:370, 1954.
51. *Salen, E.*: Acta allergol. 3:29, 1950.
52. *Schick, B.*: Ann. Allergy 14:247, 1956.
53. *Schmidt, H.*: III congrès européen d'allergologie, Firenze 1956.
54. Citirano po *Pompe, J.*: Otorinolaringologija II, 780, Zagreb 1965.
55. *Secretan, J. P.*: Practica ORL 11:387, 1949.
56. *Shambaugh, G. E.*: Ann. ORL 54:43, 1945.
57. *Speransky, H.*: Grundlagen der Theorie d. Medizin, Berlin 1950.
58. *Spužić, V.* i *Daničević, V.*: Alergija i alergijske bolesti, Beograd-Zagreb 1957.
59. *Spužić, V.* i *Spužić I.*: Semaine des Hôp. de Paris 56:2860, 1956.
60. *Teatini, G. P.* and *Clerici, E.*: Rapports III du VII congrès international d'ORL p. 30-64, Paris 1961.
61. *Tzank, A.*: Acta allergol. 1:158, 1950.
62. *Van Dishoeck, H. A. E.*: Rapports III du VII congrès intern. d'ORL Paris 1961.
63. *Van Dishoeck, H. A. E.* and *Franssen, M. G. C.*: Acta otolar. czechoslov. 5:1, 1956 (citirano po Van Dishoecku, vidi lit. 62).
64. *Van Dishoeck, H. A. E.* et *Olislagers, H.*: L'Asthme. L'Expansion scientif. française 430, Paris 1950.
65. *Voorhorst, R.*: Rapports III du VII congrès international d'ORL, Paris 1961.
66. *Voorhorst, R.*: Acta allerg. 160, 1962.
67. *Vuletić, V.*: L'asthme, L'expansion scientifique française 191, Paris 1950.
68. *Walgren, S.* and *Estola, F.*: Peditrie Fin., 278, 1962.
69. *Wiener, S.*: Ann. Allergy 6:293, 1948.
70. *Zironi, A.*: L'allergia nelle malattie infettive, Milano 1951.



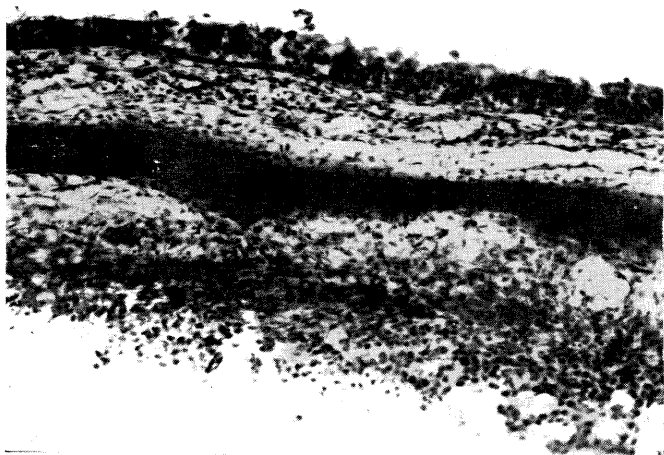
Slika 4. – Histološki presjek septuma kod kunića pet dana nakon simpatektomije i desnoj strani vrata. Jako izražen edem sluznice s proširenim krvnim žilama na desnoj strani, dok je lijeva intaktna.



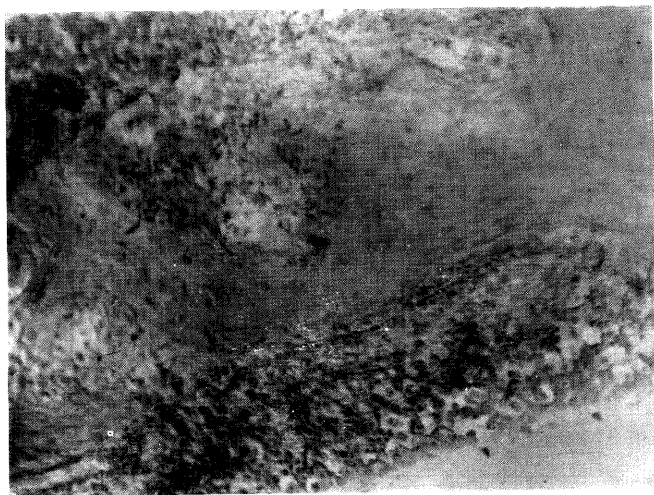
Slika 5. – Histološki presjek septuma kod kunića 15 dana nakon simpatektomije i



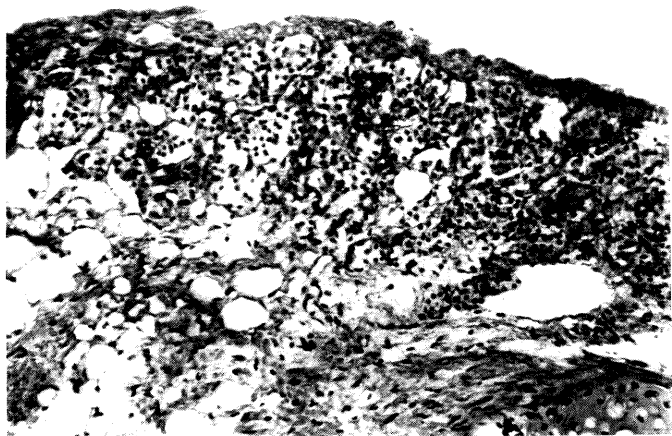
Slika 6. – Histološka slika sluznice nosa kod kunića mjesec dana nakon cervikalne simpatetomije. Reparatorni procesi još nisu završeni, ali znakova vazomotornog rinitisa više nema.



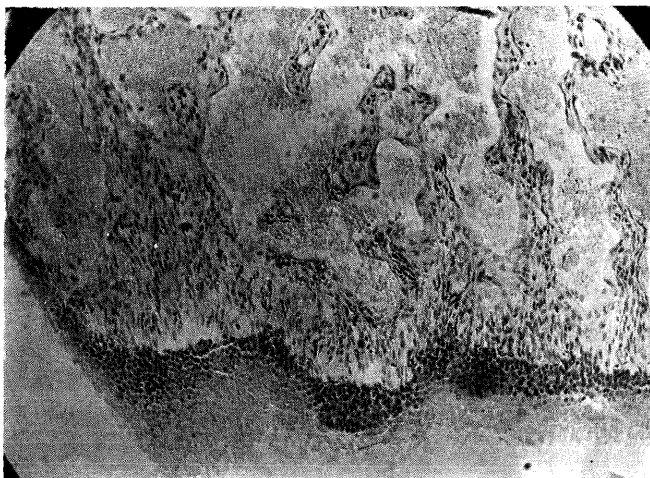
Slika 7. – Histološka slika sluznice nosa kod kunića 10 dana nakon cervikalne simpatetomije. Sluznica je edematozna, epitel zadebljan, krvne žile proširene, a vidljiva je i stanična infiltracija. Promjene su tipične za vazomotorni rinitis.



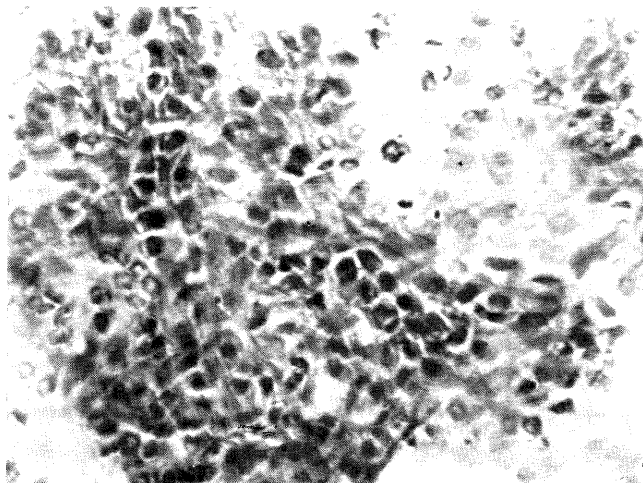
Slika 8. – Histološka slika sluznice nosa kod kunića neposredno nakon alergijske atake. Čitava sluznica je edematozna.



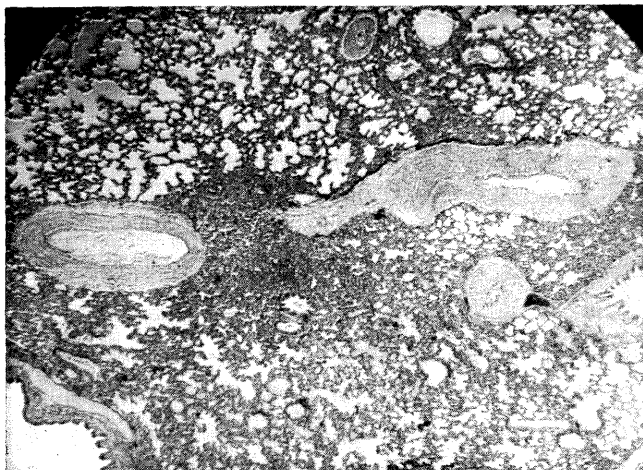
Slika 9. – Histološka slika sluznice nosa kod kunića nakon alergijske reakcije dužeg trajanja. Osim edema sluznice vidi se tipična vakuolizacija epitela.



Slika 10. – Histološki nalaz sluznice nosa u alergiziranog kunića nakon infekcije. Vrlo je izražena hiperemija bez značajnije infiltracije leukocita.



Slika 11. – Histološki nalaz sluznice nosa u kontrolnog kunića nakon infekcije. Izražena je stanična infiltracija (prevladavaju plazma stanice).



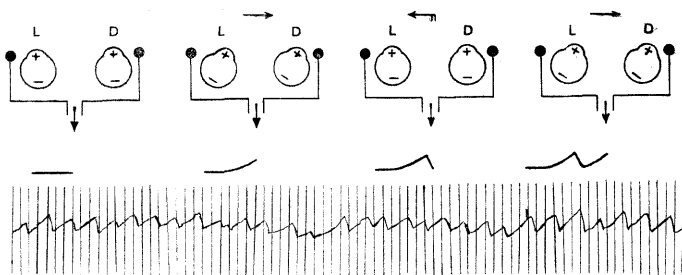
Slika 12. – Histološki nalaz u plućima i stijenci bronha u kunića iz kontrolne grupe 6 dana nakon inficiranja. Vide se žarišta upalnih stanica, koje mjestimično formiraju granulome.

MJERENJA U ELEKTRONISTAGMOGRAFIJI

UVOD

Elektronistagmografija je metoda zapisivanja nistagmusa (nistagmografija), ali bilježi zapravo sve pomake oka (okulografija) koristeći se pri tome električnim potencijalom oka (elektronistagmografija).

Oko je dipol s pozitivnim polom na korneji i negativnim na retini. Pomaci oka su pomaci dipola, pa dolazi do električnih promjena u električnom polju, u kojemu se nalaze elektrode. Promjene potencijala na bipolarnom odvodu bivaju pojačane elektronskim pojačalom u elektron-



Slika 1 Oko kao dipol i zapis nistagmusa

istagmografu i prenesene pisačima na papir. Prema konvenciji (Ženeva 1960), pomak pisača prema gore u horizontalnom kanalu znači pomak oka udesno, a pomak pisača prema gore u vertikalnom kanalu znači pomak oka prema gore (7).

Elektronistagmografija se upotrebljava u nekoliko struka: neurologiji, neurokirurgiji, okulistici (neurooftalmologiji), otologiji (otoneurologiji), neurofiziologiji i eksperimentalnoj psihologiji. Ta je metoda tek u početku svog razvoja, a kao izrazito interdisciplinarna, pokazat će očekivani napredak samo u timu spomenutih stručnjaka, priključivši im elektroničare i kibernetičare.

Primjena elektronistagmografije sve je veća, literatura je postala goleme, ali njezina dijagnostička vrijednost ostala je dosta ograničena. Dolazi vrijeme kompjutorske obrade podataka u medicini, što će sigurno dati i novi zamah elektronistagmografiji, pa je potrebno preispitati metode zapisavanja i metode izračunavanja podataka. Uključivanjem stroja u analizu, on mora dobiti što jednostavnije, čišće i mjerljivije podatke.

Prednost je elektronistagmografije pred nekim drugim metodama zapisivanja nistagmusa u tome što se snimanje vrši i sa zatvorenim očima, kad je supresija najmanja i nistagmus najsobodniji (2, 19). Ali i ta prednost traži što pouzdaniji zapis, jer kod zatvorenih očiju nije moguća neka druga kontrola pomaka oka. Ako se u zapisu javi greška, ne postoji mogućnost da se otkrije.

Kako je elektronistagmografija mlada struka, sasvim je izvjesno da elektronistagmogram nosi u sebi mnogo više interpretativnih mogućnosti nego li ih danas koristimo. Ranije snimljeni nistagmogrami poslužiti će kasnije za analizu i obradu pojedinih problema, za koje će nam biti potrebni pojedini elementi zapisa kojima danas ne pridajemo značenje. To je sigurno, jer nam se i danas takve stvari događaju.

Spomenuti su samo neki izdvojeni razlozi za dobar zapis nistagmusa. Dobar i vjeran zapis je uvjet bez kojega nikakva mjerenja ni izračunavanja ne mogu biti točna.

Upotrebljavaju se vrlo raznolika mjerenja nistagmusa, pojedinih njegovih komponenata, osobito u provociranom nistagmusu. Postoje skupine mjerenja za pojedini nistagmični trzaj, skupine mjerenja za ukupni nistagmični odziv, te razni načini izračunavanja jačine nistagmusa.

Pojedine komponente nistagmusa u takvom su međusobnom odnosu da se iz podataka jednih može zaključivati o veličinama drugih.

Još nisu razrađene metode mjerenja koje obradom podataka u nistagmogramu mogu isključiti mogućnost grešaka (na primjer, zbog otklona smjera nistagmusa ili zbog disociranog nistagmusa).

Provocirani kalorični i rotacijski nistagmus nose u sebi dobre i loše strane kaloričnog i rotatornog testa. Ako se upotrebljavaju oba testa, dobit će se više podataka, neki će podaci biti sigurniji, neke će loše strane pojedinog testa moći biti isključene, a moći će se dobiti i neki novi podaci, koje izolirani testovi u sebi ne sadrže.

Sve su to problemi koje je potrebno riješiti da bi se stvorili uvjeti za strojnu analizu. Tako možemo razlikovati tri grupe zadataka:

1. tražiti metodu zapisa koja će pružiti mogućnost što točnijeg mjerenja,
2. tražiti metode mjerenja nistagmusa,
3. tražiti metode uspoređivanja kaloričnog i rotacijskog nistagmusa.

I

UVJETI TOČNOG ZAPISA

Da bi se postigao vjeran zapis s dovoljnim brojem informacija, treba osigurati dobre uvjete snimanja, što ovisi o:

- elektronistagmografu, o njegovim svojstvima da što više isključi smetnje (u prvom redu mišićne) i da što adekvatnije zapiše nistagmus,
- kalibraciji, i stabilnosti korneoretinalnog potencijala,
- postavljanje elektroda na takav način da se može analizirati svaka promjena smjera nistagmusa.

To su samo vanjski uvjeti pravilnog zapisivanja nistagmusa, ali neophodno potrebni za bilo kakav rad i pouzdanost bilo kakvih rezultata. Nastajanje nistagmusa i ispitivanje faktora koji ga mogu mijenjati djelovanjem na raznim razinama refleksnog luka neuporedivo je složeniji problem, kojemu s odgovarajućom ozbiljnošću može pristupiti tek tim stručnjaka.

ELEKTRONISTAGMOGRAF

Elektronistagmograf treba da zadovolji slijedeće zahtjeve:

1. Da ima pet kanal: četiri kanala za rutinske odvođe i mogućnost diferenciranih odvođa (horizontalni i vertikalni), te jedan derivacioni kanal za prikazivanje brzine spore komponente. Derivacioni kanal uzima signal nakon što je ovaj prošao kroz pretpojačalo, te ga unosi u drugo pojačalo. Izlazna amplituda ovog kanala ovisi o brzini pomaka oka, pa je pomak pisaača proporcionalan brzini spore komponente. To ne mora biti kvantitativni kanal koji pokazuje jačinu brzine, nego samo odnos brzina.
2. Da ima AC pojačalo s velikom vremenskom konstantom od 3 sekunde. Još je bolje ako je vremenska konstanta $4 \frac{1}{2}$ sekunde. Treba da je ugrađen potencijometar koji će omogućiti kalibriranje kod raznih veličina korneoretinalnog potencijala.

3. Pojačanje, kod najjačeg pretpojačanja i pojačanja, treba da omogući pomak pera za 1 mm, ako je ulazni signal 1 mikrovolt. Pretpojačalo povećava signal 400 puta, tako da može 1 mikrovolt podići na 400 mikrovolta (0,4 milivolta). Pojačalo će ta 0,4 milivolta pojačati na 280 milivolta. Galvanometerski krug treba da primi 280 milivolta da bi se pero moglo pomaknuti za 1 mm (1 mikrovolt ulaza za pomak pisača od 1 mm).
4. Između pretpojačala i pojačala treba da je filter koji će propustiti samo frekvencije niže od 8 Hz. Tako će se izbjeći zapis tremora koji ima frekvenciju između 8 i 12 Hz, kao i frekvencija mišića koje su između 20 i 5.000 Hz.
5. Dobro je da aparat ima brzine papira 1, 1,5, 2 i 2,5 cm/sek, i
6. Da je aparat s tranzistorima, da bi bio prenosan, kako bi se snimane moglo vršiti i uz krevet bolesnika, i uz operacioni stol.

KALIBRACIJA

Označavanje amplitude kod pomaka oka za 5, 10, 15 itd. stupnjeva horizontalno lijevo i desno, te vertikalno gore i dolje pomoću Maddox-križa (Montandon) nije kalibriranje na standardnu vrijednost, pa se dva zapisa ne mogu direktno uspoređivati, nego samo pomoću preračunavanja.

Općenito je prihvaćen drugi način, svodenje amplitude pomaka na odgovarajuću veličinu amplitude u zapisu. Ispitanik gleda izmjenično u dvije točke koje su pod kutom od 10 ili 20°.

Jongkees i Philipszoon kalibriraju pomak oka od 20° kao 16 mm (3, 12), Smith kalibrira 10° kao 15 mm (17).

Rubin (1968) sugerira da se kalibrira 10° otklona oka kao 10 mm pomaka pisača. Takvu kalibraciju vršimo već četiri godine potaknuti nekoliko razlozima:

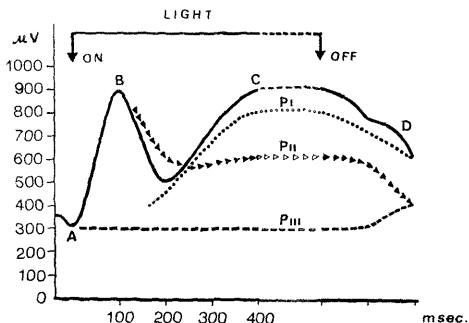
1. Ta veličina odgovara prosječnoj amplitudi provociranog nistagmusa i zauzima srednji dio amplitude pisača, gdje velike amplitude dosežu 20°, a male iznose samo nekoliko stupnjeva.
2. Vodili smo računa da nam ulazna veličina (pomak oka) i izlazna veličina (zapis) imaju što linearniji odnos pojačanja da bi se izbjegla nelinearna izobličenja. To smo najbolje postigli kalibriranjem od 10 mm za 10° pomaka oka (inž. M. Kunštić).
3. Veće pojačanje dovodilo bi kod velikih amplituda do dodirivanja i preklapanja (ili rezanja) zapisa dvaju kanala, ili bi zahtijevalo da su pisači na većoj udaljenosti od uobičajene.
4. Takav način kalibriranja (1 mm za 1°) omogućuje najlakše mjerenje amplitude i izračunavanje brzine spore komponente.

KORNEORETINALNI POTENCIJAL

Kalibriranje je potrebno, jer već sam položaj elektroda, njihov odnos prema očima, pokazuje individualne razlike koje utječu na jačinu zapisa. Ali, glavni je razlog individualnih razlika promjenljivost korneoretinalnog potencijala. On nije jednak kod raznih osoba, a i kod istog oka se mijenja.

Korneoretinalni potencijal prvi je opisao Dubois-Reimond 1849. godine (3). Taj potencijal u prvom redu ovisi o promjenama na retini. To su primarno fotokemijske, a sekundarno električne pojave. Pod djelovanjem svjetla mijenja se rodopsin (koji ima direktnu vezu s osjetljivošću štapića) iz purpurne supstancije u narančastu, svijetložutu i bijelu supstanciju, što je izraz njegovih kemijskih promjena. Zato su najveće razlike u korneoretinalnom potencijalu između oka adaptiranog na svjetlo i adaptiranog na tamu. Rodopsin, kao primarno fotosenzibilna supstancija, regenerira i za vrijeme stalnog gledanja, a ne samo u mraku. Tako i za vrijeme izvrgnutosti oka svjetlu, kao i onda kad je u mraku, dolazi do manjih oscilacija tog potencijala (9).

Korneoretinalni potencijal može se mjeriti elektroretinografski (ERN). Postavljaju se dvije elektrode: jedna na korneju a druga, u eksperimentu, na stražnji pol izvađenog oka, a temporalno u kliničkoj praksi. Na svjetlu je korneoretinalni potencijal veći. Ono što je u elektronistagmografiji važno odnosi se na dugotrajnije stanje koje se odnosi na C val elektroretinograma. Taj val ne ovisi samo o spomenutim kemijskim promjenama, nego o nekoliko faktorima izraženima komponentama P I, P II i P III.



Slika 2 Promjene potencijala zapisane elektronistagmografski.

Korneoretinalni potencijal obično iznosi u mraku, i kad se oči odmaraju, 600 mikrovolta. Ali se on može mijenjati na više i na niže i do 400 mikrovolta. Tako se mogu izmjeriti potencijali između 200 i 1000 mikrovolta. Srednja mu je vrijednost 580 mikrovolta.

Horster, Philipszoon i Winkelman (1963) utvrdili su da korneoretinalni potencijal u mraku pada, ali im se to nije poklapalo s retinogramom u kojemu je amplituda rasla. Prema ispitivanjima Jongkeesa i Philipszooona, u eksperimentima na kunićima (1964), korneoretinalni potencijal u mraku postepeno pada i stabilizira se nakon 30 minuta (3).

Osvjetljavali smo oko s niraftot-svjetlom od 3.500⁰ K, s 5.000 luksa (što odgovara, ne po sastavu nego po jaćini, dnevnom svjetlu bez sunca). Prethodno smo izvršili kalibraciju tako da 10 kutnih stupnjeva pomaka oka odgovara 10 mm amplitude zapisa. Kod ponovljenih pomaka oka za 10⁰, nakon 5 minuta osvjetljavanja, amplituda je porasla na 14 mm, a zatim je za daljih 25 minuta varirala između 12 i 13 mm.

Pet minuta nakon prekida osvjetljavanja oka, za isti pomak oka od 10 kutnih stupnjeva, amplituda zapisa pala je ne samo do primarne kalibracije od 10 mm nego ispod nje sve do 8 mm, za daljih 25 minuta nije se stabilizirala, nego je oscilirala između 6,5 i 13 mm.

Uključivanjem svjetla naglo dolazi do porasta korneoretinalnog potencijala, a kod iskljućenja svjetla do naglog pada. Ali i unutar dviju faza (svjetlo, tama) postoje manje oscilacije. Oscilacije su jaće i dugotrajnije ako je oko prethodno bilo izvrgnuto jakim svjetlu.

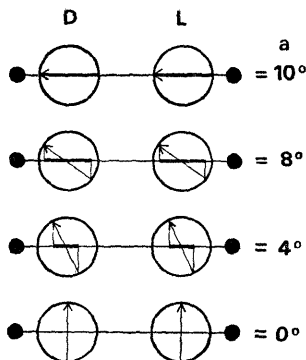
Budući da nisu dobro poznate kemijske promjene koje se događaju na retini i utjecaji koji eferentnim putovima mogu djelovati na te procese, nije moguće dobro upoznati ni promjene korneoretinalnog potencijala. Zato je potrebno oprezno pristupiti bilo kakvom tumaćenju promjena korneoretinalnog potencijala i odnosa korneoretinalnog potencijala i elektoretinograma. Dobro je pridržavati se praktičnih savjeta da se ispitanik pola sata prije pretrage fizički i psihički smiri, da se adaptira na polumrak kakav će biti u kabini za ispitivanje, te da se povremeno između testova kontrolira kalibracija.

TROKANALNA ELEKTRONISTAGMOGRAFIJA

Ako se u horizontalnom kanalu javi horizontalni nistagmus nakon kalibracije u horizontalnom pravcu, bit će moguće izmjeriti amplitudu nistagmusa. Ali, ako smjer skrene s horizontale, javlja se greška: zapis nistagmusa manji je od njegove prave amplitude, i to za onoliko za koliko je otklon od horizontale veći, da u slučaju vertikalnog nistagmusa uopće ne bude nikakvog zapisa.

Uvijek se radi o projekciji na pravac kanala. Ako postoji samo jedan odvod onda nije sigurno:

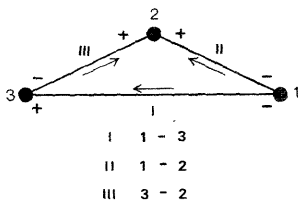
1. koji je pravi smjer nistagmusa,
2. kolika je amplituda, pa ovisno o tome ni brzina spore komponente,
3. kod čistog vertikalnog ni podatak da li uopće postoji nistagmus,
4. ni bilo kakva indikacija za postojanje disociranog nistagmusa.



Slika 3 Pomaci oka u projekciji na horizontalni kanal.

Kontrola okom traženje je pomoći od manje preciznog sredstva (manje se razlike ne mogu uočiti, kod otvorenih očiju mistagmus je slabiji ili ga nema, kod zatvorenih očiju takva je kontrola nemoguća).

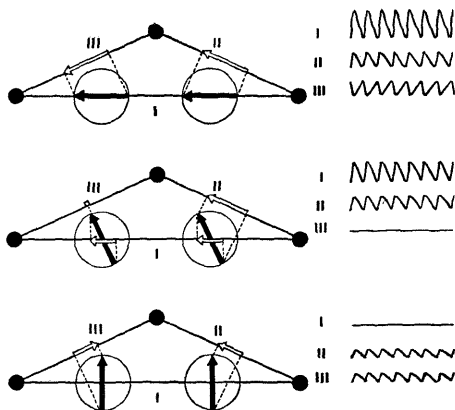
Trokanalna elektronistagmografija (11) ima konvencionalni horizontalni kanal, i dva kosa. U prvome je projekcija oba oka, u drugome pretežno lijevoga, u trećemu pretežno desnoga.



Slika 4 Položaj i vezanje elektroda u tri kanala

Veličina električnog efekta direktno je proporcionalna korneoretinalnom potencijalu, obrnuto je proporcionalna kvadratu udaljenosti elektroda od oka i upravo je proporcionalna kosinusu kuta otklona, koji se javlja između smjera pomaka oka i pravca kanala.

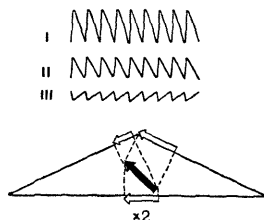
Kalibracija se vrši za 10 kutnih stupnjeva pomaka očiju u horizontalnom pravcu kao 10 mm amplitude u prvom kanalu (za oba oka), a 5 mm amplitude u drugom i trećem kanalu.



Slika 5 Pomaci oka projicirani u tri kanala i karakteristični zapis nistagmusa u tri kanala, kod horizontalnog, kosog i vertikalnog nistagmusa.

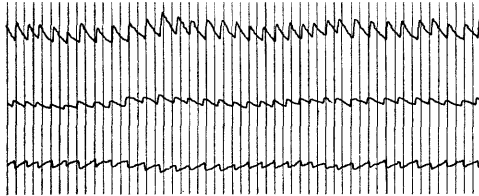
Ako oči imaju jednak smjer i jačinu gibanja, što odgovara u daleko najvećem broju slučajeva (s minimalnim odstupanjem i u nedisociranom nistagmusu), onda se oba oka mogu uzeti kao jedan dipol i iz tri komponente u tri kanala može se odrediti:

1. smjer nistagmičnog trzaja i
2. izračunati veličinu amplitude.

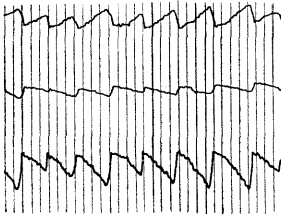


Slika 6 Iz amplituda i smjera nistagmusa u tri kanala može se sastaviti vektogram i odrediti pravi smjer i amplituda nistagmusa

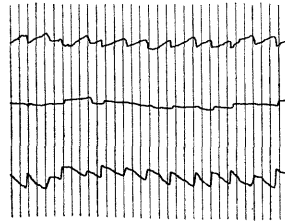
Ako se iz tri kanala ne može složiti vektogram, to upozorava na postojanje disociranog nistagmusa. Trokanalna elektronistagmografija ne može analizirati elemente disociranog nistagmusa, jer ne raspolaže neop-



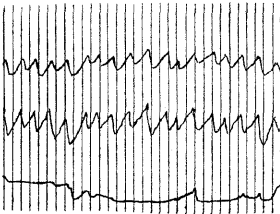
Slika 7 Horizontalni nistagmus na desnu stranu u trokanalnom nistagmogramu. U prvom kanalu je zbroj pomaka desnog i lijevog oka, u drugome pretežno projekcija pomaka lijevog oka, u trećemu pretežno projekcija pomaka desnog oka. U horizontalnom nistagmusu u drugom i trećem kanalu amplituda je jednaka, smjer suprotan.



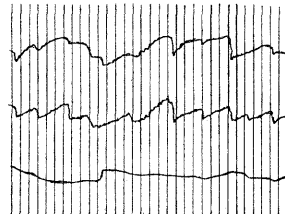
Slika 8 Malo kosi nistagmus sa smjerom desno i malo prema dolje; u drugom je kanalu amplituda manja nego u trećemu.



Slika 9 Kosi nistagmus sa smjerom na desno i dolje, okomit na drugi kanal: u drugom kanalu nistagmusa nema.



Slika 10 Kosi nistagmus sa smjerom lijevo dolje, okomit na treći kanal: u trećem kanalu nistagmusa nema.

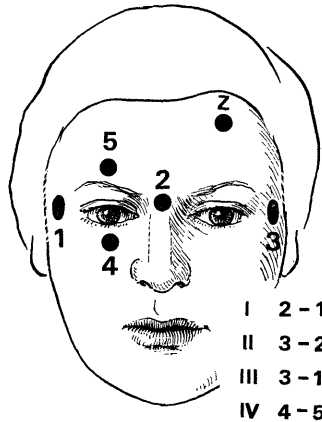


Slika 11 Vertikalni nistagmus prema dolje: u drugom i trećem kanalu isti je smjer nistagmusa, a u prvom kanalu nistagmusa nema.

hodno potrebnim brojem podataka za svako oko posebno, ali već taj podatak, da se uopće radi o disociranom nistagmusu, sam po sebi vrlo je koristan, kad se uzme u obzir da ga je teško utvrditi drugim načinom ili čak posumnjati u njegovo postojanje.

DISOCIRANI NISTAGMUS

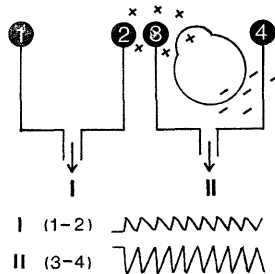
U slučaju disociranog nistagmusa postavljaju se elektrode za horizontalni i vertikalni odvod za svako posebno (2).



Slika 12 Diferencirani odvodi.

Ali kod toga postoji utjecaj jednog oka na diferencirane kanale postavljene za drugo oko. To se najjednostavnije može pokazati primjerom kad ispitanik ima samo jedno oko.

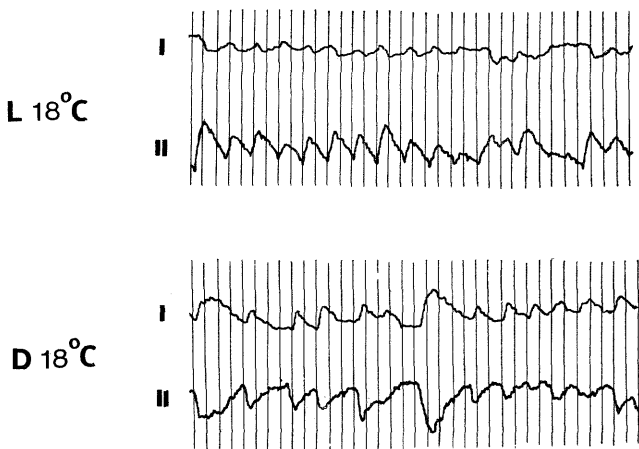
U eksperimentu (vidi sliku 13) postavili smo elektrode temporalno i sa svake strane korijena nosa po jednu, tako da se dobio prvi horizontalni kanal za lijevo oko (1-2) i drugi horizontalni kanal za desno oko



Slika 13 Pomakom oka u lijevo pozitivni naboj djeluje na lijevu elektrodu drugog kanala, ali i na desnu elektrodu prvog kanala, pa se javlja zapis nistagmusa suprotnog smjera u prvom kanalu (bez oka).

(3-4). Lijevo se radilo o ispražnjenoj orbiti. Kad se desno (jedino) oko pomiče na lijevu stranu daje u svom horizontalnom kanalu pomak pisara prema dolje, jer je elektroda 3 pozitivnija od elektrode 4. U isto vrijeme pozitivni naboj korneje djeluje na elektrodu 2 prvog kanala, i kako ona postaje pozitivnija od elektrode 1, u prvom kanalu pisar ide prema gore, makar u tom kanalu oka nema.

U našem primjeru (vidi sliku 14) provocirani nistagmus javlja se i u prvom kanalu (za lijevo oko, kojega nema), ali je suprotnog smjera i slabiji je. Ispiranje desnoga uha hladnom vodom daje u prvom kanalu (bez oka) jači odziv negoli u prvom pokusu (treba uzeti u obzir smjer brze komponente i činjenicu da je elektronistagmograf bio s AC pojačalom s vremenskom konstantom od 0,7 sekundi).

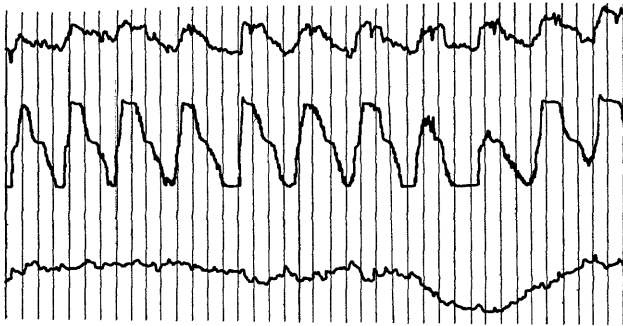


Slika 14 Provocirani nistagmus. Horizontalni odvođi kao na slici 13. Ispitanik nema lijevo oko.

Prikazan je ovaj primjer da se pokaže kako su kod disociranog nistagmusa odnosi znatno složeniji negoli se obično misli, pa diferencirani kanali za svako oko posebno ne mogu dati čistu projekciju pomaka za svako oko posebno, već bi trebalo voditi računa o utjecaju i drugoga oka. Posebno je pitanje koliko je tada uopće moguće, uzimajući u obzir te utjecaje, preračunavanjima dobiti izolirane podatke za svako oko.

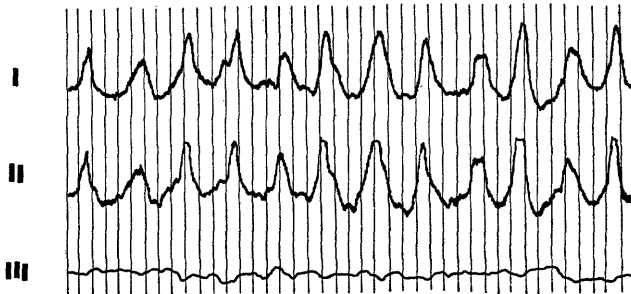
SMETNJE

Smetnje u kanalu snimanja mogu biti u prvom redu vanjske električne smetnje, pa je potrebno da bolesnik bude uzemljen. Isto je tako dobro da i kabina za snimanje bude električki izolirana i pravilno uzemljena. I tada treba paziti da se ne jave smetnje u električnom polju. Tako na primjer, ako se u blizini elektroda njiše gumena cijev kojom se irigira voda u uho, javljaju se smetnje (vidi sliku 15).



Slika 15 Neobični artefakt: pokraj glave se njihala guma za irigaciju

U kanal mogu ući moždani valovi, kardijalne promjene potencijala, pulzacije arterija, mišićni tremor, treptanje kapaka i mišićni potencijali od ukočenosti ili pomicanja dijelova tijela. Mišićne smetnje se mogu smanjiti gušenjem frekvencija iznad 8 Hz. Ali ima pokreta tijela koji unose artefakte u elektronistagmogram, a nisu visokofrekvencijski mišićni naponi. Tako na primjer, ako ispitanik ritmički njiše stopalo oslo-njeno na petu, svaki njihaj daje jedan pozitivni zubac (vidi sliku 16).



Slika 16 Neobični artefakt: dijete je njihalo stopalom za vrijeme snimanja.

Oko, i kad najviše miruje, pokazuje stalne lagane pomake koji iznose od 4 do 5 minuta jednog kutnog stupnja, ali oni se ne registriraju kod kalibracije u kojoj jedan kutni stupanj daje amplitudu tek od jednog milimetra.

Znojenje mijenja otpor kože i unosi smetnje kod snimanja.

Položaj bolesnikove glave (labirinta i polukružnih kanala) ima utjecaja na jačinu provociranog nistagmusa.

Utjecaj alkohola, barbiturata, psihofarmaka i antihistaminika mijenja nistagmus, pa je potrebno prekinuti uzimanje lijekova barem dva dana prije nistagmografije (3, 4, 19).

Mnogi neuralni mehanizmi djeluju na vestibularne centre i na nistagmogene zone. Aferentni je tok impulsa u mnogim senzoričnim sistemima, pa tako i u vestibularnome modificiran eferentnim centrifugalnim nitima, kontrolom senzoričnog ulaza, organiziranog kao autoregulatorni sustav na principima povratne veze. Kod vestibularnog aparata na prvoj sinaptičkoj razini, u nivou vestibularnih jezgara, utječu na vestibularnu aktivnost kortikalni, supkortikalni, cerebelarni i spinalni centri (4). To predstavlja veliko područje djelovanja na nistagmus, ali ono za sada izmiče mogućnostima naše kontrole.

Jačina supresije nistagmusa otvaranjem očiju može biti različita. Ona ovisi o adaptaciji, o kompenzaciji vestibularnih smetnji, i to pomoću koordinacije proprioceptivnog osjeta, koji je s vestibularnim, akustičnim i vidnim aparatom povezan za funkciju percepcije prostora. Tako klizač otvaranjem očiju suprimira i vrlo jak vestibularni nistagmus. Bolesnici koji su kompenzirali svoju vestibularnu ataksiju mogu imati i dalje nistagmus sa zatvorenim očima, ali ga nemaju s otvorenim očima.

Sličan mehanizam adaptacije dovodi do slabljenja nistagmičnog odziva kod ponavljanih podraživanja vestibularnog aparata.

Stanje budnosti suprimira nistagmus, pa je tako nekad potrebno otkloniti pažnju ispitanika zadavanjem aritmetičkih zadataka, da bi se oslobodio i javio provocirani nistagmus.

II

VELIČINE NISTAGMUSA

Pojedinačne mjere. U svakom nistagmičnom trzaju može se odrediti njegov smjer, izmjeriti amplituda (otklon oka u kutnim stupnjevima), brzina spore komponente, brzina brze komponente, te trajanje nistagmičnog trzaja.

Maksimalne mjere. U provociranom nistagmusu razlikuju se dvije glavne veličine: trajanje nistagmičnog odziva i jačina odziva (3, 19). Trajanje nistagmičnog odziva mjeri se u sekundama, a jačina odziva:

najvećom amplitudom,
najvećom frekvencijom,
najvećom brzinom spore komponente.

Kod toga se kao najveća vrijednost (maksimalni intenzitet) ne uzima pojedinačna najveća vrijednost, nego srednja vrijednost iz odjeljka od 10 sekundi najjačeg odziva.

Ukupne mjere. Osim pojedinačnih i maksimalnih postoje i ukupne mjere nistagmičnog odziva:

trajanje provociranog nistagmusa,
ukupna amplituda,
ukupna frekvencija, \sim
 \sim ukupni broj trzaja.

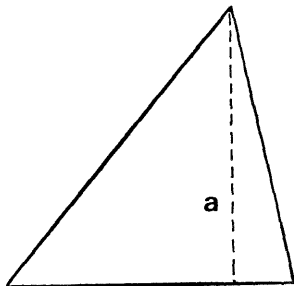
Pojedine se veličine mogu dovoditi u razne odnose, u namjeri da se nađe formula za najbolju mjeru nistagmičnog odziva (19):

ukupna amplituda: ukupni broj trzaja = srednja amplituda,
ukupni broj trzaja: trajanje = srednja frekvencija,
ukupna amplituda: trajanje = srednja brzina spore komponente.

Među spomenutim veličinama neke imaju veće, a neke manje značenje, kao izraz vestibularne funkcije. Neke veličine čine stanovit odnos s drugima. Postavljanje nekih odnosa ima određeno značenje, dok neko drugo nema. Zato je potrebno analizirati i ocijeniti vrijednosti pojedinih veličina i njihovih odnosa.

AMPLITUDA

Amplituda je maksimalni otklon oka u jednom nistagmičnom trzaju. Mjeri se kao visina okomice na osnovicu s koje je započeo otklon oka.



Slika 17 Amplituda - a.

Ako je kalibracija izvršena prema Jongkeesu i Philipszoonu (12) tako da 16 mm amplitude zapisa odgovara kutnom otklonu oka od 20° , onda je potrebno preračunavanje, pa je amplituda otklona oka

$$A = \frac{20}{16} \cdot a$$

gdje je a amplituda zapisanog nistagmičnog trzaja.

Svaki milimetar amplitude odgovara 1,25 kutnih stupnjeva otklona oka, pa se milimetri mogu pomnožiti s 1,25 da bi se dobili kutni stupnjevi otklona oka.

Ako je kalibracija drugačija: 25 mm za 20° , onda je

$$A = \frac{20}{25} \cdot a$$

Izračunavanje je mnogo jednostavnije ako je kalibracija takva da amplituda u milimetrima odgovara jednakom broju kutnih stupnjeva, na primjer 20 mm za 20° , ili 10 mm za 10° , jer je tako uvijek

$$a \text{ mm} \triangleq A^{\circ}$$

$$A \triangleq a$$

FREKVENCIJA

Frekvencija označava broj nistagmičnih trzaja u jednoj sekundi.

BRZINA SPORE KOMPONENTE

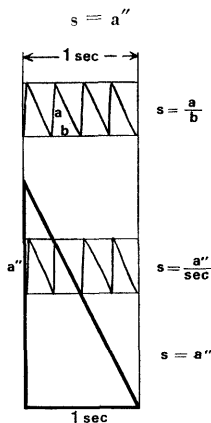
Brzina spore komponente izražava se i mjeri kutnim stupnjevima u sekundi (vidi sliku 18): kolikom se brzinom oko kretalo za vrijeme vestibularne komponente nistagmičnog trzaja, za koliko se stupnjeva otklonilo u kojem vremenu (a/b), ili što je jednostavnije izraziti – koliki bi otklon oko učinilo da se tom brzinom kretalo jednu sekundu (brzina u jednoj sekundi – $a/1$).

Brzina je spore komponente

$$s = \frac{a}{b}$$

ili ako se računa ukupni otklon u jednoj sekundi (a'' – ukupna amplituda u jednoj sekundi)

$$s = \frac{a''}{1}$$



Slika 18 Mjerenje brzine spore komponente.

Ako je kalibracija izvršena prema Jongkeesu i Philipszoonu da 16 mm odgovara otklonu oka od 20° , onda je potrebno preračunavanje, pa će biti

$$s = \frac{20}{16} \cdot a''$$

Smatra se da je spora komponenta najdirektniji izraz vestibularne funkcije i tako najznačajniji faktor u određivanju jačine vestibularnog odziva (3, 19).

TRAJANJE

Trajanje provociranog nistagmusa mjeri se od početka stimulacije sve do prestanka odziva. To je, ili potpuni prestanak nistagmičnih trzaja, ili javljanje četvrtastih valova, ili početak sekundarnog nistagmusa (nistagmusa suprotnog smjera), ili, ako je postojao spontani nistagmus, vraćanje na stanje prije početka stimulacije (jednak smjer i jačina spontanog nistagmusa).

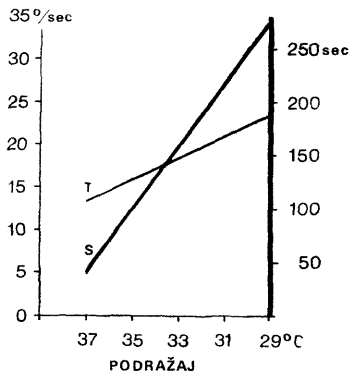
Prije nistagmografije to je bila jedina mjerljiva veličina nistagmičnog odziva. U nistagmografiji taj je faktor izgubio svoje ranije značenje, koje je imao samo zbog nemogućnosti mjerenja drugih elemenata nistagmusa.

Henrikson je ispitivao vrijednost tog faktora. Kod iste osobe s različitim uvjetima stimulacije (na jednoj strani trepanaciona šupljina), nije se pojavila očekivana razlika u trajanju nistagmusa, nego je nju pokazala

samo brzina spore komponente. Kod perifernog oštećenja vestibularnog (i akustičnog) aparata jedne strane, pareza se očitovala u brzini spore komponente, a trajanje je obostrano bilo gotovo jednako. On taj fenomen zove infleksibilnošću trajanja nistagmusa (5). Ta se infleksibilnost pripisuje u prvom redu činjenici da je trajanje vezano uz vrijeme putovanja hladnog vala kod kalorizacije hladnom vodom (Schmalz, 1931), pa su i latencija i trajanje nistagmusa najvećim dijelom ovisni o brzini putovanja toplinskog vala (6). Jedino, ako je vestibularni prag jače podignut, nistagmus će biti kraći ili se uopće neće javiti na 30° C, nego tek na jači podražaj (5).

I mnogi drugi autori smatraju da brzina spore komponente daje pouzdanije podatke o jačini odziva negoli trajanje (Van Egmond i Tolk 1954, Henrikson 1955, 1956, Jongkees i Philipszoon (1964) (5). Philipszoon smatra da trajanje ovisi i o pamćenju nistagmusa, pa se ono može produžiti i izvan granice u kojoj je izraz vestibularne osjetljivosti (3). Na temelju svojih zapažanja Stahle primjećuje (1958) da se oštećenje labirinta može dva puta češće dijagnosticirati iz ostalih elemenata negoli iz trajanja nistagmusa, pa zaključuje da je za periferno oštećenje vestibularnog aparata trajanje nistagmusa nepouzdan podatak (18).

Maran je na 30 zdravih osoba pravio usporedbe između jačine stimulusa i jačine odziva izmjerenom brzinom spore komponente i posebno trajanjem.



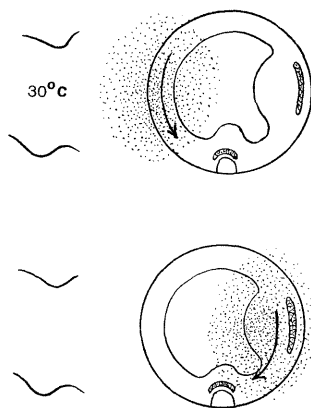
Slika 19 Brzina spore komponente (s) bolje prati porast podražaja negoli trajanje nistagmusa (T), (prema A. G. D. Maranu).

Utvrдио je da promjena temperature stimulusa za samo jedan stupanj pojačava brzinu spore komponente četiri puta više negoli trajanje nistagmusa.

Treba spomenuti i istraživanja Hallpikea i Hooda (1953), koji su dokazali da defleksija kupule proporcionalno prati samo brzina spore komponente.

Maran upozorava na svoja zapažanja, koja ponovo aktualiziraju drugi Ewaldov zakon. Primijetio je da se na temperaturama vode od 37° C javlja nistagmus na suprotnu stranu, što znači da je temperatura u labirintu bila viša u njegovih 30 slučajeva, pa je tako i stimulus od 30° C jači negoli stimulus od 44° C. To znači da se drugi Ewaldov zakon ne može odbaciti samo na temelju podataka da topli stimulus (ampulopetalna) i hladni (ampulofugalna limfokineza) daju podjednak odziv.

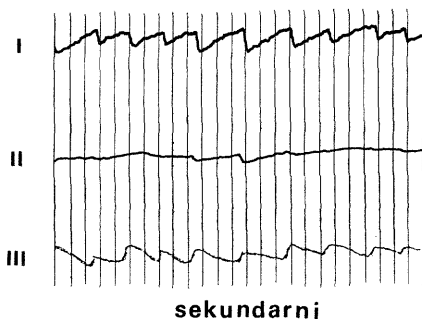
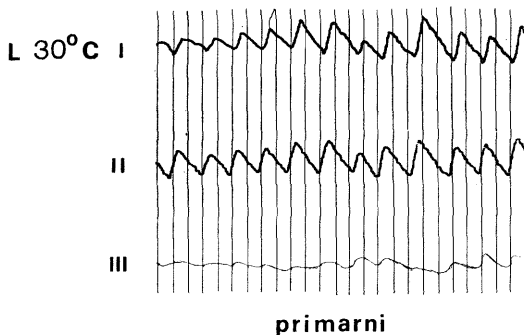
Za sekundarni nistagmus postoji nekoliko tumačenja. Na temelju našeg iskustva želimo dati još jednu potvrdu autorima koji smatraju da je to posljedica putovanja kaloričnog vala kroz labirint s periferije prema centru (Schmalz, Jongkees). Hladni val zahvaća najprije lateralni polukružni kanal, a kad dođe do utrikulusa pritisak endolimfe na kupulu dolazi s druge strane (6).



Slika 20 Putovanje toplinskog vala kroz labirint.

U našim primjerima, na strani velike trepanacione šupljine javio se jaki sekundarni nistagmus i nakon hladne i nakon tople stimulacije, dok sekundarnog nistagmusa nije bilo na neoperiranom uhu. Za ove primjere teško bi bilo naći neke razloge za centralni, a ne mehanički, periferni uzrok. To ne isključuje mogućnost postojanja i sekundarnih nistagmusa, koji bi bili drugog uzroka.

Prikazani su samo neki prigovori na trajanje nistagmusa kao mjerila stanja vestibularnog aparata i potvrde vrijednosti brzine spore komponente.

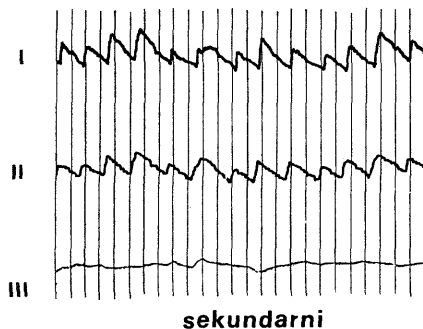
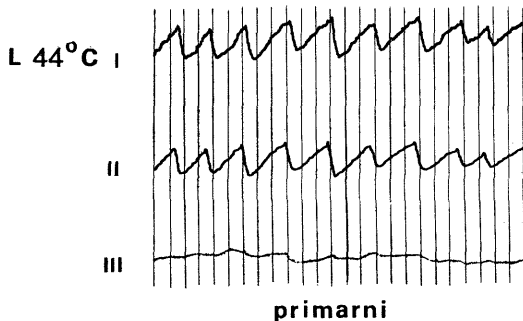


Slika 21 Jak sekundarni nistagmus trepaniranog lijevog uha u trokanalnom nistagmogramu, dok drugo, normalno uho, nije dalo sekundarni nistagmus.

ODNOS ELEMENATA NISTAGMIČNOG TRZAJA

Preostaje još analiza amplitude i frekvencije. Jongkees tvrdi da je frekvencija previše promjenljiv faktor a da bi bio klinički značajan. Budući da je amplituda ovisna i o frekvenciji, u pitanju je i njezina vrijednost. Zato treba protumačiti kakav je odnos amplitude, frekvencije i brzine spore komponente.

Ranije smo vidjeli da amplituda nistagmičnog trzaja odgovara brojem amplituda zapisa kod kalibracije 1 mm za 1⁰, a brzina spore komponente da odgovara ukupnoj amplitudi u jednoj sekundi ako je frekvencija 1/sek (vidi sliku 22).



Slika 21

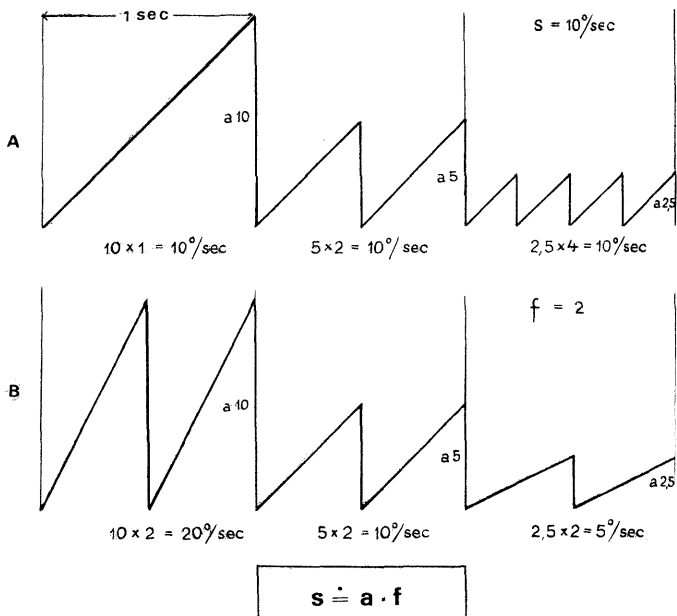
Kod jednake brzine spore komponente (vidi sliku 22) amplituda će se mijenjati jedino ovisno o frekvenciji. Ako se frekvencija u jednoj sekundi poveća na 2, a brzina spore komponente ostane ista, amplituda će biti dva puta manja, ali će ukupna amplituda u jednoj sekundi biti ista kao i ranije (dva puta veća negoli u pojedinom nistagmičnom trzaju). Kod frekvencije 4/sek, amplituda će biti 4 puta manja, ali ukupna amplituda u jednoj sekundi ostaje ista (4 puta veća negoli u pojedinom nistagmičnom trzaju), što se vidi i u primjeru na slici 23.

Kod stalne frekvencije nistagmusa (vidi sliku 22) amplituda je proporcionalna brzini spore komponente: kod veće brzine spore komponente amplituda je veća, a kod manje brzine manja.

Prema tome, kod iste brzine spore komponente amplituda i frekvencija su obratno proporcionalne (što je frekvencija veća amplituda je manja, i obratno). Kod iste frekvencije amplituda i brzina spore komponente su upravo proporcionalne (što je amplituda veća to je i brzina spore komponente veća, i obratno).

Iz toga proizlazi formula da je

$$s = a \cdot f$$

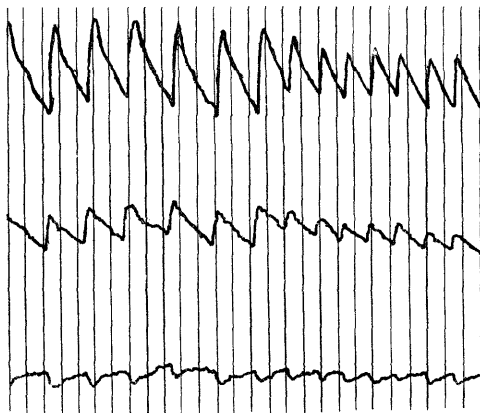


Slika 22 Odnos amplitude (a), frekvencije (f) i brzine spore komponente (s).

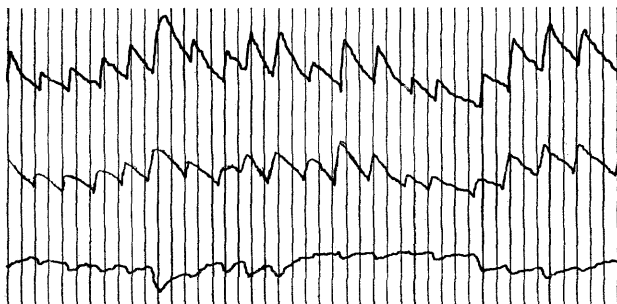
A. Nepromijenjena s , suprotno proporcionalan odnos a i f .

B. Nepromijenjena f , upravo proporcionalan odnos a i s .

Ta je formula teoretski točna u prikazivanju odnosa amplitude, frekvencije i brzine spore komponente. Ona u praktičnim mjerenjima može dati stanovitu grešku zbog vremenskog trajanja brze komponente. Greška je veća što je frekvencija veća i brzina brze komponente manja, a ne bi je bilo kad bi brzina brze komponente bila neizmjenjivo velka. Ali to za sam prikaz odnosa triju faktora nema značenja.



Slika 23 Trokanalni nistagmogram u kojemu se vidi promjena odnosa frekvencije i amplitude kod prosječno jednake brzine spore komponente. Ako je brzina spore komponente jednaka, onda se amplituda smanjuje za onoliko koliko se frekvencija povećava (obratno proporcionalno prema formuli $s = a \times f$).



Slika 24 Trokanalni elektronistagmogram u kojemu se kod prosječno jednake frekvencije (2/sek) mijenjaju brzine spore komponente i amplituda. Ako je frekvencija jednaka, za koliko se smanji brzina spore komponente za toliko se smanji i amplituda (upravno proporcionalno prema formuli $s = a \times f$).

Ono što se želi pokazati, to je recipročan odnos amplitude i frekvencije. A on, zapravo, najmanje ovisi o podražljivosti vestibularnog aparata.

Prag javljanja brze komponente ovisi o stanju napetosti očnih mišića, njihovoj istegnutosti kod lateralnog pomaka oka, o tonusu te muskulature, zatim o refleksima koji se reguliraju povratnom proprioceptivnom

vezom. Aferentni impulsi iz očnih mišića u retikularnoj formaciji ponovo sreću impulse vestibularnog organa i proprioceptivnog osjeta. Tako kod fizički trenirane osobe frekvencija je veća (amplituda manja), a kad takva osoba prestane s fizičkim treningom frekvencija postaje manja (amplituda veća).

Taj odnos ovisi i o centralnim faktorima, kao što je fiksacija (19). Fiksiranje povećava frekvenciju (što čini da je fiksirani objekat više puta zahvaćen makulom, pa je broj vidnih informacija veći).

Odnos frekvencije i amplitude mogao bi ukazati na jedan novi faktor – prag javljanja brze komponente, za kojega možemo reći, da je niži (osjetljiviji) što je frekvencija veća i amplituda manja. Njegova razlika od otvorenih i zatvorenih očiju mogla bi numerički izraziti jačinu supresije nistagmusa fiksacijom. Kod nekih oštećenja maloga mozga taj je prag viši, pa bi možda njegove vrijednosti mogle imati i neko šire dijagnostičko značenje.

Ako nam prag pojavljivanja brze komponente ne predstavlja čistu vestibularnu mjeru, onda nam izolirane amplituda i frekvencija ne daju vestibularne podatke, jer ovisе o tom pragu. Amplituda i frekvencija daju važan vestibularni podatak samo u svom produktu ($a \cdot f$), a to je zapravo brzina spore komponente, pa se tako i matematički (logički) ukazuju kao suvišne mjere u određivanju osjetljivosti perifernog vestibularnog aparata. Prag brze komponente mogao bi dati neke podatke druge vrste, ali sigurno nije mjera jačine nistagmusa. Time ostaje kao najznačajnija mjera jačine vestibularnog odziva brzina spore komponente (koja u sebi uključuje produkt amplitude i frekvencije).

ANALIZA DISRITMIČNOG NISTAGMUSA

Ako se shvati uzajamnost triju faktora (amplitude, frekvencije i brzine spore komponente) onda je lakše opisati i analizirati osnovne vrste disritmije nistagmusa. Nepotrebno je razlikovati četiri tipa odnosa amplitude i frekvencije (mala amplituda – velika frekvencija, mala amplituda – mala frekvencija, velika amplituda – velika frekvencija, velika amplituda – mala frekvencija) kako to čini Mounier-Kuhn (8).

Dovoljno je za takav tip disritmije, uz podatak brzine spore komponente koja je stalna, unijeti podatak frekvencije (ili amplitude) da bi se definirala sva tri faktora. Disritmiju takvog tipa možemo označiti samo kao *disritmiju frekvencije* (vidi sliku 23) koju označavamo razlomkom (u ovom slučaju $4/2$ – kasnija frekvencija: prethodna frekvencija), a disritmija ne postoji ako je koeficijent 1 ($1/1$, $2/2$, $4/4$ itd.).

Ako je frekvencija stalna a promjenljiva su druga dva faktora, onda možemo govoriti o *disritmiji brzine spore komponente* (vidi sliku 24) u kojoj, uz naznaku frekvencije, disritmiju označavamo razlomkom (u

ovom slučaju 28/7 – kasnija brzina spore komponente : prethodna brzina spore komponente), a disritmija ne postoji ako je koeficijent 1 (1/1, 10/10, 20/20 itd.).

Treći tip čini *zajednička disritmija frekvencije i brzine spore komponente*.

Četvrti tip je *intermitentni nistagmus*.

ODNOS I ZNAČENJE UKUPNIH MJERA

Među raznim mjerama jačine nistagmusa izabrana je najvažnija (brzina spore komponente). Ali u mjerenju postoji jedna praktična poteškoća: odabrati mjesto najjačeg odziva od 10 sekundi i odrediti srednju vrijednost brzine spore komponente. Kod disritmičnog nistagmusa poteškoće su još veće, pa je i mogućnost greške veća. Zato je potrebno ispitati mogućnost i vrijednosti ukupnih mjera, kao i vrijednost odnosa pojedinih ukupnih mjera. Ranije je spomenuto koje su to ukupne mjere i koji se odnosi najčešće predlažu.

Ukupni broj trzaja ne može imati veće značenje kad znamo da ovisi o mnogim ekstravestibularnim faktorima.

Ukupna amplituda ima sasvim drugo značenje negoli srednja amplituda ili amplituda u jednom nistagmičnom trzaju. Dok srednja i pojedinačna amplituda ovisi o pragu brze komponente, ukupna je amplituda zbroj svih vestibularnih otklona oka (sporih komponenata) neovisna o frekvenciji i amplitudi pojedinačnih nistagmičnih trzaja, i time mjera za ukupni odziv provociranog nistagmusa.

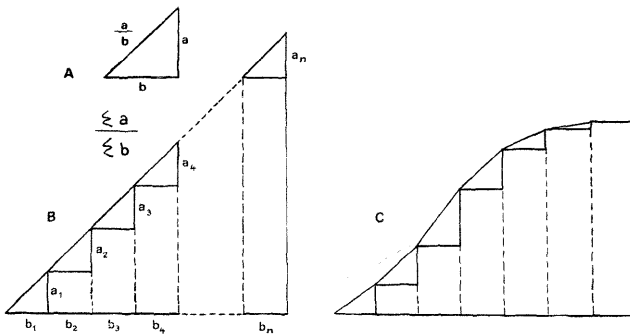
Ukupna amplituda : ukupni broj trzaja izrazit će na neki način prag javljanja brze komponente, ali ne jačinu nistagmusa.

Ukupni broj trzaja : trajanje dat će srednju frekvenciju (srednji broj trzaja u jednoj sekundi) što također ne može biti mjera vestibularne funkcije.

Ukupna amplituda : trajanje djeluje vrlo privlačno, jer na prvi pogled sliči najvažnijoj pojedinačnoj mjeri – brzini spore komponente. Brzina je spore komponente a/b , a ovdje se radi o $sumi\ a/sumu\ b$. Time se dobiva srednja brzina spore komponente.

Na slici 25 vidi se taj odnos, kao i grafički prikaz kad bi se ucrtale srednje brzine sporih komponenata za svaku pojedinu sekundu (prikaz C).

Očito je da bi od dva nistagmična odziva, koji bi imali jednaku maksimalnu vrijednost brzine spore komponente, manju vrijednost pokazao onaj odziv koji bi dulje trajao, a to ne bi bilo opravdano. Istina, možemo smatrati da naglo zaustavljanje dosta jakog nistagmusa (što bi dalo veliku srednju vrijednost) predstavlja neku pozitivnu vestibularnu funkciju, ali je sigurno da u odnosu $suma\ a/suma\ b$ ne bi mogao biti izraz



Slika 25 Odnos amplitude i trajanja nistagmusa.

prave funkcije vestibularnog aparata. Treba se sjetiti faktorā koji utječu na trajanje nistagmičnog odziva (u kaloričnom testu), pa da se tu mjeru ne prihvati kao dovoljno pouzdanu i indikativnu. Treba uzeti u obzir i to da ukupna amplituda odgovara *sumi* a , ali trajanje ne odgovara *sumi* b , nego je veća za sumu trajanja brzih komponenata. Izračunavanje daje još nepouzdanije rezultate ako postoji disritmični, a pogotovo ako postoji intermitentni nistagmus.

Može se zaključiti da od ukupnih mjera ostaje kao najpouzdanija ukupna amplituda, jer je ona izraz otklona pod djelovanjem vestibularnog aparata, a ne uzima u obzir nepouzdanе faktore kao što su frekvencija i trajanje.

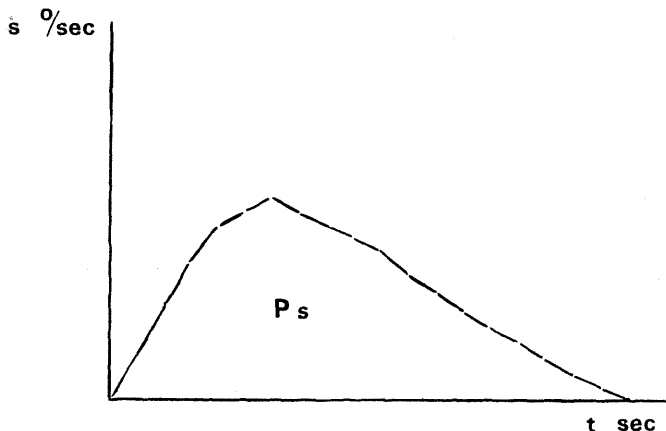
UKUPNA JAČINA NISTAGMUSA

Ako je brzina spore komponente najbolja pojedinačna mjera jačine nistagmusa, onda se nameće kao logično da bi najbolja ukupna mjera bila – ukupna jačina nistagmusa. Nju se može izračunati iz brzine spore komponente.

U svakoj pojedinoj sekundi nije važna ni amplituda ni frekvencija, nego srednja brzina spore komponente u toj sekundi; ona predstavlja jačinu nistagmusa u jednoj sekundi.

Prikaz C u slici 25 dao bi krivulju koja bi rasla i onda kad brzina spore komponente pada. Zato bi bolji grafički prikaz, kakav se već i upotrebljava (19), bio takav u kojemu bi bile prikazane promjene brzine

spore komponente, ali ne za svakih 20 sekundi, kako radi Stahle, nego za svaku sekundu. Tako bi grafički vrlo precizno bila prikazana promjena jačine nistagmičnog odziva, a ukupnu bi jačinu izrazilo polje omeđeno krivuljom P_s (vidi sliku 26).

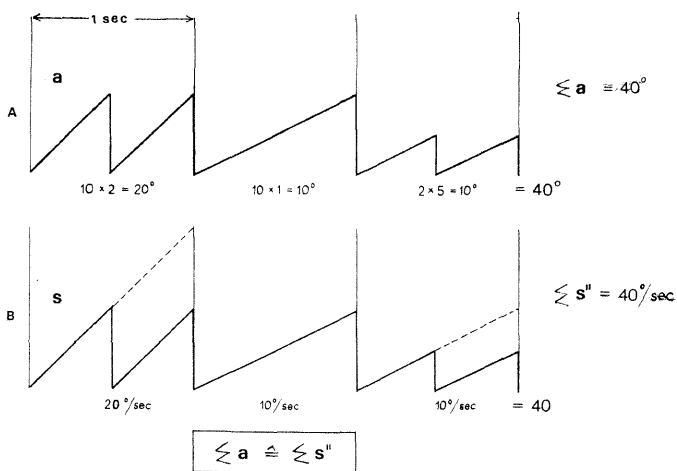


Slika 26 Grafički prikaz brzine spore komponente u funkciji vremena

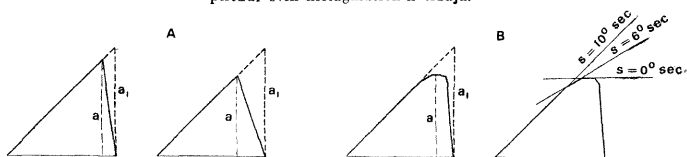
Ako krenemo s druge točke drugim putem, doći ćemo do istog rezultata. Zbroj amplituda u jednoj sekundi odgovara srednjoj brzini sporih komponenata u jednoj sekundi (vidi sliku 27), ili rečeno s obzirom na funkciju organa: zbroj amplituda u jednoj sekundi odgovara jačini nistagmusa u jednoj sekundi, a zbroj svih amplituda (ukupna amplituda) odgovara ukupnoj jačini nistagmičnog odziva (odgovara zbroju srednjih vrijednosti brzine spore komponente za svaku pojedinu sekundu). Tako

$$\Sigma a \triangleq \Sigma s''$$

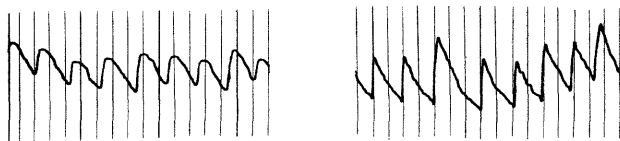
Između sume s'' i sume a postoji ipak stanovito neslaganje. Suma a je manja od sume s'' za onoliko koliko joj od amplitude oduzima trajanje brzih komponenata (prikaz A u slici 28). Što je brzina brze komponente veća, razlika je manja. Suma a bit će od sume s'' i za onoliko manja, koliko amplitudama oduzima na krajevima smanjenje brzine, koja ne ovisi samo o otporu kojega pruža inercija oka svakoj promjeni smjera gibanja, nego i o drugim faktorima koji još nisu dovoljno proučeni (vidi prikaz B u slici 28 i sliku 29).



Slika 27 Ukupna brzina sporih komponenta svih sekunda jednaka je ukupnoj amplitudi svih nistagmatičnih trzaja.



Slika 28 A. Skraćenje amplitude ovisno o trajanju brze komponente.
 B. Skraćenje amplitude ovisno o smanjenju brzine spore komponente.



Slika 29 Jako usporenje oka (zaobljeni vrhovi) – a;
 malo usporenje oka (oštri vrhovi) – b.
 kod slične brzine spore komponente (oko 27^o/sek).

Uzimajući u obzir poteškoće koje bi pružilo mjerenje srednjih brzina sporih komponenata u svakoj sekundi, olakšanje nam pruža što toj mjeri teoretski odgovara ukupna amplituda, a praktički joj je najbliža. Samo se elektronskim računalom može dobiti u razumnom vremenu potpuno točna mjera ukupne jačine nistagmičnog odziva.

Time smo kod ukupnih mjera isključili frekvenciju i trajanje kao nesigurne veličine, a najvažniji elemenat vestibularne osjetljivosti brzinu spore komponente, sveli smo na ukupnu amplitudu. Amplituda je veličina koju se lako mjeri i onda kad postoji disritmički i intermitentni nistagmus.

U ovom smo poglavlju nastojali iz velikog broja elemenata nistagmičnog odziva, iz velikog broja mjera i odnosa, koje unose više zabune nego li daju koristi, izdvojiti najvažnije.

To su kao pojedinačna ili maksimalna mjera – brzina spore komponente (s), a kao ukupna mjera – ukupna amplituda (Σa).

One su sasvim sigurno pravi izraz jačine nistagmusa (s) i nistagmičnog odziva (Σa), jer su jednako ovisne o otklonu oka pod djelovanjem vestibularnog aparata i jednako isključuju nepouzdanu faktore, koji nisu proporcionalni podražljivosti vestibularnog aparata.

III

ODNOS ROTACISKOG I KALORIČKOG NISTAGMUSA

Uobičajeno je mjerenje vestibularne funkcije rotatornim ili (i) kaloričnim testom. Svaki od njih ima dobre i loše strane, pa se uspoređivanjem jednih i drugih podataka mogu dobiti bolji rezultati.

U rotatornom testu ubrzanje i usporenje direktno djeluje na polukružne kanale (16), a kako ne postoji posrednik u prijenosu stimulusa, podražaj može biti točno doziran. Zato se vestibularni prag kod normalne vestibularne funkcije kreće u relativno uskom rasponu između 0,6 i 1,07⁰/sek² (Montandon), i kažemo da je u rotatornom testu stimulus točno definiran.

Loša je strana rotatornog testa što provocirani nistagmus predstavlja odziv oba labirinta (na ampulopetalnu limfokinezu jednoga i ampulofugalnu limfokinezu drugoga). Drugi Ewaldov zakon glasi: Ampulopetalni podražaj jači je od ampulofugalnog za horizontalne kanale, a fenomen je suprotan za vertikalne kanale. Taj zakon dokazan je samo na golubovima, i mnogi autori smatraju da ne vrijedi za čovjeka. Prema našim podacima iz klasičnog rotatornog testa, ima razloga da ga se prihvati makar kao pravilo. Ali, jasno je da ni u slučaju kad je ta pretpostavka točna, nije moguće doznati pravi odziv svakog labirinta posebno. Uvijek se radi o zbroju odziva labirinta, pa na primjer odziv od 20 sekundi može biti rezultati od 10 + 10 ili 15 + 5 ili 20 + 0 ili bilo kojeg drugog odnosa pribrojnika. Samo u jednom slučaju znamo koji pribrojnici daju zbroj, a to je onda kad je odziv nula (0 + 0 = 0).

S druge pak strane kalorični test nema točno definiran stimulus. On je definiran samo na ulazu u zvukovod, ali nije na ulazu u labirint. Ne znamo dva najvažnija podatka: koja količina topline ulazi u lateralni polukružni kanal i koliko je temperatura endolimfe.

To je i glavni razlog što normalni odziv (prema Stehleu) varira u maksimalnoj brzini spore komponente između 15 i 55^o/sek, a u ukupnoj amplitudi između 1000 i 45000^o. Trajanje nistagmusa pokazuje znatno manji raspon, između 300 i 500 sekundi, ali tu se radi o već poznatoj infleksibilnosti.

Kalorični test, za razliku od rotatornog, ima točan i poznat odnos odziva lijevog i desnog labirinta, jer je svaki od njih podražen, istina, ne točno definiranim stimulusom, ali zato jednako jakim. To vrijedi pod uvjetom da su anatomski odnosi zvukovoda, srednjega uha i labirinta obostrano simetrični (da nije bilo jednostranih patoloških promjena ili, što je manje pouzdano, da su te patološke promjene bile simetrične).

Da je podražaj u kaloričnom testu nesigurna vrijednost, pokazuju i oni primjeri u kojima je rotatorni test dao uredan odziv, a kalorični je bio bez odziva, makar ispitanik nikada nije imao smetnje ravnoteže ni bolesti labirinta ili centralnog živčanog sistema. Kad je na jednoj strani došlo do perforacije bubnjića, i kalorični je test na toj strani pokazao da je vestibularni aparat podražljiv u fiziološkim granicama (dobiven je odziv kakav se sreće kod otvorenog srednjeg uha). Radilo se samo o vrlo nepovoljnim uvjetima putovanja kaloričnog vala, a ne o smanjenoj podražljivosti ili nepodražljivosti vestibularnog aparata.

Zato je potrebno oprezno interpretirati kalorični nistagmus. Ni smanjeni ni negativni simetrični odziv, bez drugih dijagnostičkih podataka, ne treba punom sigurnošću tumačiti kao oštećenje vestibularne funkcije.

Ono što u kaloričnom testu ima najveću vrijednost, to je odnos odziva dvaju labirinata. Ako se radi test po Fitzgeraldu i Hallpikeu, onda se ta razlika može dobiti formulom Jongkeesa i Philipszoon (3)

$$\frac{(1 + 3) - (2 + 4)}{(1 + 2 + 3 + 4)} \cdot 100\%$$

Uvijek je prethodno potreban otoskopski pregled, pa ako postoji razlika u nalazu, onda se ta formula ne može primijeniti, jer i u onim slučajevima gdje se očito radi o smanjenoj podražljivosti jedne strane, prema kaloričnom testu ona može izgledati jače osjetljiva ako je na njoj trepanaciona šupljina, perforacija bubnjića ili neka druga promjena koja olakšava prijenos topline. Camarda i Antognoli opisuju razlike koje su vezane uz promjene na bubnjiću: slabiji odziv ako je bubnjić zadebljan, jači odziv ako je uvučen (1).

Općenito je priznato da je stimulus u rotatornom testu točno doziran, a da je u kaloričnom testu točan odnos odziva dvaju kanala (1). Kad

god se pokaže potreba prave se usporedbe između rezultata rotatornog i kaloričnog testa. Kao logičan nameće se postupak povezivanja tih podataka na takav način da nepoznanice postanu poznate, da se dobiju novi podaci u rotatornom testu.

PRERAČUNANI ROTATORNI TEST

Odziv lijevog kanala u kaloričkom testu (L_k) i odziv desnog kanala u kaloričnom testu (D_k) daju zajednički odziv kaloričnog testa (K):

$$L_k + D_k = K$$

Odziv lijevog kanala u rotatornom testu (L_r) i desnog kanala u rotatornom testu (D_r) daju zajednički odziv rotatornog testa (R):

$$L_r + D_r = R$$

Među tim vrijednostima neke su točne i pouzdane:

R – zajednički odziv rotatornog testa i $L_k : D_k$ – odnos kanala u kaloričnom testu,

neke su nepouzidane:

L_k i D_k – odziv pojedinog kanala u kaloričnom testu, a neke su nepoznate:

L_r i D_r – odziv pojedinog kanala u rotatornom testu.

Zanemarujući nepoznate vrijednosti a koristeći točne, mogu se doznati nepoznate vrijednosti. Zanemarujući nepouzidane vrijednosti L_k i D_k , a koristeći točne R i $L_k : D_k$, mogu se doznati nepoznate vrijednosti L_r i D_r .

Ako se u formulu rotatornog testa unesu dobivene numerične vrijednosti za pojedini slučaj (trajanje u sekundama, ili bolje: brzina spore komponente u $^\circ/\text{sek}$ ili ukupna amplituda u kutnim stupnjevima) doznat će se u rotatornom testu udjel desnog i lijevog kanala u ukupnom odzivu. To se može dobiti slijedećim postupkom, gdje su numerične vrijednosti zbog primjera izabrane proizvoljno i mogu predstavljati bilo koju mjerljivu veličinu nistagmusa:

$$\begin{array}{lll} L_k + D_k = K & \text{ili} & 10 + 20 = 30 \\ L_r + D_r = R & \text{ili} & L_r + D_r = 30 \end{array}$$

Ako je $K = R$ onda je $L_k = L_r = 10$, a $D_k = D_r = 20$.

Da bi se izbjegle eventualne razlike odziva ampulopetalne i ampulofugalne limfokineze ukupni rotacijski odziv (R) treba da je ukupni odziv vrtnje na lijevu i na desnu stranu.

Ako K (ukupni kalorični odziv) nije jednak R (ukupnom rotacijskom odzivu) onda je potrebno K svesti na numeričnu vrijednost R množenjem ili dijeljenjem. Tim brojem, kojim je množen ili dijeljen K da bi se dobio R, treba množiti ili dijeliti L_k (odziv lijevog kanala u kaloričnom testu) da bi se dobio nepoznati L_r (odziv ljevog kanala u rotatornom testu), te D_k (odziv desnog kanala u kaloričnom testu) da bi se dobio nepoznati D_r (odziv lijevog kanala u rotatornom testu). Tako dobivene vrijednosti za L_r i D_r zbrojene dat će R. Na primjer, ako je

$$L_k + D_k = K \quad \text{ili} \quad 20 + 40 = 60$$

$$L_r + D_r = R \quad \text{ili} \quad L_r + D_r = 30$$

onda je $R = 60/2$, pa je i $L_r = L_k/2 = 10$, i $D_r = D_k/2 = 20$ ili

$$20 + 40 = 60$$

$$10 + 20 = 30$$

To znači da se može postaviti formula

$$L_r = L_k \cdot \frac{R}{K}$$

$$D_r = D_k \cdot \frac{R}{K}$$

Način preračunavanja je *matematički* sasvim ispravan, čak i u onom slučaju ako se ne preračunavaju iste vrijednosti (trajanje, amplituda, frekvencija, brzina spore komponente) nego se u jednom testu uzme jedna a u drugome druga. Ali budući da nismo jednako sigurni u dijagnostičku vrijednost bilo koje veličine potrebno je uzeti pouzdane mjere vestibularne funkcije. Rezultat će biti onoliko slabiji i nepouzdaniji koliko je nepouzdana mjera koja se uzima za preračunavanje (trajanje, frekvencija, amplituda kao maksimalna mjera), a bit će točan ako se uzimaju prave veličine (brzina spore komponente ili ukupna amplituda).

PRIMJEDBA

Cjelovitost jednog stroja, organa ili sustava možemo spoznati jedino analizom i sintezom.

Nistagmus je kompleksni izraz vestibularnog aparata i veza koje on ima s akustičnim, proprioceptivnim, vegetativnim, cerebelarnim, motoričnim, vidnim, supkortikalnim i kortikalnim sustavima. Predstoji velik posao da se nađu testovi kojima bi se dobio čisti vestibularni odziv na

raznim razinama, ili da se u dosadašnjim testovima odvoje elementi čistog odziva pojedinih razina. Ta se nastojanja mogu usporediti s onima u audiometriji, s razlikom da su ovdje poteškoće mnogo veće. Ovaj se rad bavi tim osnovnim elementima u elektronistagmogramu.

Da se ne bi krivo shvatilo kako mislimo da su to jedini problemi i jedini zadaci nistagmografije i proučavanja funkcije vestibularnog aparata, potrebna je bila ova primjedba.

Dok je s jedne strane potrebna analiza, s druge je strane potrebna sinteza. Čak se postavlja pitanje: težeći opravdanom analitičkom (dijagnostičkom) cilju, zar se općenito ne zapostavlja jedno drugo (funkcionalno) područje – interpretacija vestibularnog nistagmusa kao kompleksnog koordiniranog odziva spomenutih aparata, koji zajedno čine senzorični sustav za percepciju prostora (spaciosenzorični sustav). Pa zato ne treba uvijek povezanost i ovisnost vestibularnog aparata gledati samo kao prepreku njegova ispitivanja, nego i kao jedini način njegova funkcioniranja.

Možda mi još uvijek percepciju izolirano većemo uz pojedine osjetne aparate, makar govorimo o polisenzoričnoj percepciji, još uvijek pre malo vodimo računa o onim percepcijama koje nisu vezane uz pretežno jedno osjetilo, kao što je na primjer osjet prostora, zatim, još uvijek najveći interes posvećujemo mjerenju oštećenja, a premalo sposobnostima sačuvane funkcije.

Treba očekivati da će nas osobito specijalna medicina jače suočiti s postojanjem percepcije prostora, što će nas uputiti na nešto drugačiji način mišljenja o ulozi vestibularne funkcije.

SAŽETAK

Posoji potreba za točnijim i jednostavnijim metodama zapisivanja i mjerenja nistagmusa. Ovim se radom želi dati prilog tim nastojanjima u elektronistagmografiji.

1

Trokanalnom elektronistagmografijom, iz odnosa zapisa tri kanala, možemo uvijek točno odrediti smjer nistagmusa, te omogućiti preračunavanje prave amplitude i brzine spore komponente, te upozoriti na eventualno postojanje disociranog nistagmusa.

2

Među mnogim veličinama, koje se uzimaju kao mjera jačine vestibularnog odziva, postoji opravdanje da se prihvati po jedna: za maksimalnu jačinu – brzina spore komponente, za ukupnu jačinu – ukupna amplituda.

Uključivanjem odnosa odziva dvaju kanala iz kaloričnog testa u rotatorni test možemo postupkom koji zovemo preračunani rotatorni test, doznati dvije nepoznate vrijednosti: udjel desnog i lijevog kanala u ukupnom odzivu rotatornog testa.

LITERATURA

1. *Camarda V., Antognoli F.*: Sulla validita della stimolazione termica in soggetti portatori di affezioni catarrahali chroniche della membrana timpanica, *Il Valsava*, 64 : 227, 1968.
2. *Corvera B. J., Ramirez M. J.*: Registro electronistagmografico de los movimientos oculares de rastreo en el diagnostico otoneurologico, *Anales de la Sociedad Mexicana de Otorrinolaringologia*, 10 : 159, 1967.
3. *Jongkees L. B., Philipszoon A. J.*: Electronystagmography, *Acta Oto-Laryngologica*, Supp. 189, 1964.
4. *Litton W. B., Mc Cabe E. F.*: Controllable variables in vestibulometry, *Archives of Otolaryngology*, 86 : 111, 1967.
5. *Maran A. G. D.*: The Use of Electronystagmography in Clinical Practice, *The Journal of Laryngology and Otology*, 80 : 1224, 1964.
6. *Milojević B.*: Kaloričko podraživanje vestibularnog aparata, *Rad JAZU*, knjiga 332, str. 69, 1963.
7. *Montandon A.*: Conception actuelle de l'examen vestibulaire, *Archives Suisses de Neurologie Neurochirurgie et de Psychiatrie*, 96 : 249, 1965.
8. *Mounier-Kuhn P., Morgon A., Achahe R.*: Apport de l'electronystagmographie (E. N. G.) dans l'expertise medico-legale des traumatismes craniens, *Journal Français d'oto-rhino-laryngologie et Chirurgie Maxillo-Faciale*, 15 : 8, 1966.
9. *Osgood C.*: Metod i teorija u eksperimentalnoj psihologiji, *Savremena škola*, Beograd, 1964.
10. *Pansini M.*: Vestibularne pretarage u osoba oštećena sluha, *Govor*, god. 1, br. 2, str. 103, 1967.
11. *Pansini M., Padovan I.*: Three derivations in electronystagmography, *Acta Oto-laryngologica*, 67 : 303, 1969.
12. *Philipszoon A. J.*: Electronystagmography in daily ENT practice, *Archives of Otolaryngology*, 86 : 441, 1967.
13. *Philipszoon A. J.*: Some aspects of electronystagmography, *The Journal of Laryngology and Otology*, 81 : 887, 1967.
14. *Rubin W.*: Language of Nystagmography, *Archives of Otolaryngology*, 84 : 74, 1966.
15. *Rubin W.*: Nystagmography, *Archives of Otolaryngology*, 87 : 64, 1968.
16. *Simonović M.*: Les conditions de mouvement de l'endolymphe a l'interieur des canaux semi-circulaires, *Journal français d'oto-rhino-laryngologie et Chirurgie Maxillo-Faciale*, 15 : 1, 1966.
17. *Smith C. R.*: Measurement of nystagmus using electronystagmography (ENG), *Journal of speech and Hearing disorders*, 32 : 133, 1967.
18. *Spector M.*: Electronystagmography in the Office, *Archives of Otolaryngology*, 87 : 53, 1968.
19. *Stahle J.*: Electro-nystagmography in the caloric and rotatory tests, *Acta Oto-Laryngologica*, Supp. 137, 1958.
20. *Stroud M. H.*: Electronystagmography, *Archives of Otolaryngology*, 84 : 78, 1966.

SADRŽAJ

<i>N. Grčević, V. Vince i J. Vesenjāk-Hirjan</i>	
Neuropatologija eksperimentalnog krpeljnog meningoencefalitisa	5
<i>S. Cvetinić, E. Topolnik, M. Kralj i D. Petrović</i>	
Infekcije goveda virusom parainfluenca 3	29
<i>D. Ihić i M. Juzbašić</i>	
Dalje atenuirani virus morbila Edmonston – Zagreb	35
<i>R. Subotić</i>	
Histološke promjene unutarnjeg uha poslije virusnih upala	53
<i>Vladimir Bauk</i>	
Spektroskopska analiza glasa laringektomiranih	65
<i>Dr. Željko Poljak</i>	
Rhinitis allergica i infekcija nosne sluznice	129
<i>M. Pansini</i>	
Mjerenja u elektronistagmografiji	171

