

RAD JUGOSLAVENSKE AKADEMIJE ZNANOSTI I UMJETNOSTI  
KNJIGA 336

ODJEL ZA MEDICINSKE NAUKE  
KNJIGA 9

*Urednik*

Akad. D. PEROVIĆ

JUGOSLAVENSKA AKADEMIJA ZNANOSTI I UMJETNOSTI

**R A D**

**JUGOSLAVENSKE AKADEMIJE  
ZNANOSTI I UMJETNOSTI**

*A*

**ZAGREB**

---

1964

*Tehnička redakcija, tisak, uvez i oprema:*

IZDAVAČKI ZAVOD JUGOSLAVENSKE AKADEMIJE  
*Zagreb*

## NAŠE GLEDANJE NA OPERATIVNO LIJEČENJE VANJSKIH MALIGNOMA VRATA

Mi se u našoj praksi sve češće susrećemo s malignomima na vratu, bilo da se radi o primarnim tumorima, bilo, a što je mnogo češće, o metastazama tumora grkljana, ždrijela, jednjaka, glave ili prsnoga koša. Posve iznimno ove su tvorevine izraz sistemnih oboljenja ili metastaze tumora udaljenih regija.

Napredak kirurške tehnike, moderna antišok terapija i antibiotika omogućili su znatno proširenje operativnih zahvata, čiji je opseg danas ograničen samo vitalnim elementima i stupnjem razvoja same bolesti. To znači, drugim riječima, da operativna granica naših zahvata prelazi uobičajene anatomske areale, da ona seže od arkusa aorte sve do lubanjske baze uz čuvanje bar jedne A. vertebralis i jedne A. carotis i jednoga vagusa, i da praktično samo fascia praevertebralis čini granicu koju nije dobro prelaziti, jer u tom slučaju prodor tumora u dubinu stražnjega medijastinuma nije više moguće ograničiti. Kirurška terapija otpada naravno i u svim onim slučajevima gdje, ukoliko se radi o metastazama, primarni tumor nije dohvatljiv za efikasnu terapiju ili gdje kod primarnih tumora na vratu postojeće udaljene metastaze isključuju svaki izgled na i povremenoga zalječenja. Iznimku u tom slučaju čine samo karcinomi štitnjače sa svojim pulmonalnim metastazama ako one sadržavaju dovoljno tkiva štitnjače sposobnoga za gomilanje joda i tako podesnoga za primjenu izotopne terapije na licu mjesta.

Kako ovakva kirurgija vratne regije zahtijeva osobitu operativnu tehniku i minuciozno poznavanje ne samo topografskih nego naročito i patofizioloških odnosa ove regije, to ona iz domene opće kirurgije sve više prelazi u ruke specijaliziranih kirurga, u konkretnom slučaju laringologa. Potrebu za to naročito opravdava preoperativna i postoperativna njega, o čijoj pravilnoj primjeni u velikoj mjeri ovisi i uspjeh same kirurške terapije. Problem ishrane takvih bolesnika naročito je težak, te traži specijalno poznavanje i provođenje dijetalne prehrane.

Kod primarnih tumora najčešći su karcinomi štitnjače, koji sa svojim čvoraštim masama i ogromnim dimenzijama mogu duboko sezati u medijastinum i tako stavljati pred operatera veoma složene zadatke. U materijalu od 84.109 biopsija u našem Patološko-anatomskom institutu u razdoblju od 1956. do 1962. god. bilo je 840 strumektomija, od čega 41 karcinom i 7 sarkoma. To čini 4,8% karcinoma. Limfosarkomi sa svojim ogromnim dimenzijama zbog gušenja nerijetko dovode do potrebe hitne traheotomije. Ona može predstavljati pravi problem u slučajevima gdje je tumor poput ogromnoga oklopa obavio obje strane vrata, a malacična traheja zbog neujednačenoga rasta tumora našla se dislocirana daleko od medijalne linije. Posve su rijetki primarni karcinomi. Oni gotovo beziznimno proizlaze iz okoline velikih krvnih žila, s kojima su intimno srasli, i obično na površini zauzimaju oblik karfiola široko rascvjetalih granica. Kao metastaze javljaju se ove izrasline kod tumora usne i nosne šupljine, vilice i parotide, ždrijela i grkljana, rjeđe kod primarnih karcinoma traheobronhijalnoga stabla. Nerijetko su vratne metastaze upravo prvi klinički manifestni simptom samoga oboljenja. To se naročito često događa kod karcinoma nosnoga ždrijela, hipofarinksa i štitnjače. Naročito kod ovoga posljednjega može primarni tumor biti toliko sitan, da ga se ni radioaktivnim jodom ne može otkriti. Sasvim su rijetke vratne metastaze kod karcinoma vanjskoga i srednjega uha, kod karcinoma dojke kao najbliže žljezdane metastaze njenih koštanih metastaza u temporalnoj skvami ili zigomatičnom nastavku i kod karcinoma želuca.

Diferencijalno-dijagnostički dolaze u našim krajevima pored nespecifičnih upala vratnih žlijezda u obzir tuberkuloza, indolentni buboni kod primarnoga luetičnoga afekta i neki benigni tumori. Akutni upalni procesi lako se prepoznavaju po karakterističnoj anamnezi, po njihovoj toplini i, ako su tonzilogeni, po promjenama na tonzilarnom aparatu. Kod indolentnih bubona kod djece u krajevima nekadašnjega endemskoga luesa primarni ulcus pronalazimo na usnici, na tonzili ili na jeziku. Pronalazak spiroheta u tamnom polju osigurat će dijagnozu. Opsežni gломus-tumori kao i aneurizme velikih krvnih žila mogu u iznimnim slučajevima također praviti teškoće u diferencijalnoj dijagnozi. Veliki neurinomi i disembrioni novorođenčadi mogu u nekim slučajevima praviti analogne slike malignomima vezivnog tkiva, napose limfosarkomima. Iz našega razmatranja posve smo isključili tumore limfatičnoga i krvnoga aparata kao i retikuloendotelijalnoga sistema.

Ne nije sistematika ovih tumora tema ovoga današnjega razlaganja. Riječ je o našem stavu u pogledu indikacija i sprovođenja terapije kod malignoma vanjskoga vrata, koji je, zahvaljujući novim spoznajama o karakteru malignih tumora i njihovu širenju upravo u području vrata, umnogome i naš terapeutski postupak uputio u novom pravcu.

Kad je u aprilskom broju američkog časopisa »Surgery-Gynecology and Obstetrics« god. 1943. ALEXANDER BRUNSCHWIC uveo pojam Panlaryngectomy u literaturu, dobio je tom malenom ali značajnom publikacijom konačnu formulaciju jedan period vratne kirurgije, u kojem su mnogo-

brojni autori od BILLROTHA dalje ustrajno istraživali i sve više širili obujam naših kirurških zahvata kod karcinoma vrata. Uvođenjem toga novoga pojma u kirurgiju larinksa stigli smo do krajnje granice mogućih mutilacija, ostavljajući samo još anatomske strukture neophodno potrebne za život. Premda se prvih godina panlaringektomija izvodila samo u slučajevima gdje su ili samo raširenje tumora izvan laringealnih granica ili jasno izražene vratne metastaze to izričito tražile, nova gledanja u samu bit karcinomske bolesti sve dalje su širila indikaciju za ovakve krajnje radikalne kirurške zahvate i uvjetovala sve češće izvođenje panlaringektomije i njoj sličnih zahvata. Postavlja se pitanje koliko su takvi zahvati bili indicirani i da li je kasnija sudbina ovih bolesnika izvođenje tih zahvata mogla opravdati?

Mislim da se danas svi slažemo u tome kad tvrdimo da je karcinom bolest čitavoga organizma, a ne samo neko oboljenje lokalnoga karaktera. Danas znamo da kod karcinoma imamo posla s pojavom kod koje se ne radi samo o neobuzdanom bujanju izvjesne grupe stanica nego isto toliko i o insuficijenciji svih onih mehanizama koji pod normalnim fiziološkim uvjetima takvo patološko umnožavanje sprečavaju ili pojedine takve aberantne stanice već u samom njihovu začetku uništavaju. Takvo razmišljanje nas sve dalje odvodi od čisto morfološkoga promatranja same histološke strukture tumora i isključivu važnost histološke slike sve dalje potiskuje u pozadinu. Mi se više ne možemo zadovoljiti samo čistim opisom histološkoga nalaza, oblika pojedinih ćelija ili broja i karakteristike postojećih mitozu, jer nam one samo djelomično i veoma nepotpuno mogu pružiti uvid u sam tok zbivanja tumoroznih procesa. To je i razlog što kiruršku eksciziju «u zdravom» ili samo obasjavanje tumora ne možemo više smatrati jedinim i zadovoljavajućim načinom terapije. Iz istoga razloga se ne možemo više zadovoljiti starom VIRCHOWOVOM tvrdnjom da već jedna stanica s patološkom mitozom znači početak tumora, kao što nam i pojava jedne rezistentne mutacije u bakterijskoj kulturi još uvijek ne daje pravo da napustimo upotrebu određena antibiotika, kako je to uvjerljivo u svojim radovima prvi objasnio DEMEREC. Proces postanka patološkoga bujanja nekoga tkiva mnogo je dublji i on zahvaća u osnovne biološke probleme celularnoga metabolizma i krajnje kompliciranih međusobnih odnosa pojedinih elemenata mnogoćelijskoga organizma.

Svaki je od nas imao prilike da se u svojoj dugogodišnjoj praksi susretne s karcinomom koji se u obliku novih žarišta uvijek ponovno pojavljuje u okolnom naoko zdravom tkivu operative rane. Pojava takvoga širenja očigledno oludara od obične klasične proliferacije tumora kakvu smo vični dnevno vidjeti i pratiti kod naših slučajeva. Kirurškim zahvatom ili zračenjem nismo u mogućnosti da stanemo na put ovakvoj vrsti tumora i oni se stalno šire i pojavljuju prividno posve neovisno od prvnih okolnih limfnih putova. Ta žarišta ne pokazuju ni makroskopski, a ni mikroskopski nikakav kontinuitet s prvotnim tumorom, iako je morfološki karakter njihovih stanica posve identičan s onima iz glav-

noga tumora. U nekim slučajevima možemo eventualno pomišljati na dijasporu pojedinih tumorskih stanica iz glavnoga tumora u okolno tkivo putem najfinijih tkivnih prostora, ali mnogo češće nam takvi i preformirani putovi u konkretnom arealu uopće nedostaju, pa tako za njihov postanak moramo tražiti drugo objašnjenje. Takav smo način širenja naročito često opažali kod karcinoma usne šupljine, nastalih iz leukoplakije, lokaliziranih najčešće na sluznici lica ili u predvorju usta i nekih oblika karcinoma gornje čeljusti. U takvim smo slučajevima primorani da pomišljamo na istovremeni multilokularni postanak tumorskih žarišta, vjerojatno provociran istim kancerogenim agensom. Analogne pojave mogli smo pratiti i u muskulaturi vrata kod ekstralaringealnih tumora ili vratnih metastaza faringealnih karcinoma.

Ovakva multipna pojava karcinoma već je odavna poznata. Tako je SHEILD 1899. god. mogao opisati multilokularne karcinome na koži koja je bila izložena jakoj i dugotrajnoj insolaciji, a BERKELEY je 1917. god. opisao takvu pojavu kod karcinoma vulve, nastalog iz maligno alterirane leukoplakije. Najstariji pak takav opis, koliko je meni poznato, potiče od HUTCHINSONA, koji je još 1875. god. opisao bilateralnu pojavu karcinoma na jeziku zauzetom leukoplakijom. Čini nam se da upravo ovakva multilokularna pojava označuje onu fazu općega karcinogenoga procesa u kojoj otporne snage zahvaćenoga organizma gube sve više svoju efikasnost, omogućavajući tako nesputani rast i umnožavanje dotle suprimiranim karcinogenim stanicama, razasutim u zahvaćenoj regiji.

U našoj se literaturi sve više množe opažanja ne samo o istovremenim multilokularnim malignomima na jednom individuumu nego i o ponovnom izbijanju karcinomske bolesti kod istoga čovjeka i u većim vremenskim razmacima. Tako sam mogao pratiti slučaj gdje se 17 godina nakon izvršene laringektomije zbog planocelularnoga karcinoma pojavio istovrsni tumor na mekanom nepcu, koji je usprkos radikalnom zračenju godinu i po kasnije ne samo ponovno izbio na istom mjestu nego doveo i do metastaza na vratu i na kraju do eksitusa. Drugi je bio slučaj karcinoma donje usne, koji je izbio 6 godina nakon izvršene laringektomije zbog karcinoma grkljana. Još je poučniji bio slučaj kod kojega su punih 19 godina nakon izvršene laringektomije zbog karcinoma izbile metastaze u jetrima, duodenumu, lumbalnoj kralješnici i mozgu i dovele do smrti bolesnika.

Van svake je sumnje da je VIRCHOW imao pravo kad je postanak tumora postavio kao celularni problem par excellence. Ali se od toga vremena sadržaj onoga što mi danas shvaćamo pod celularnim problemom bitno izmijenio. Dok je, naime, VIRCHOW pod tim nazivom mislio uglavnom na morfološke promjene unutar same stanice, a manje na poremećaj njenih funkcionalnih odnosa, mi danas upravo tim funkcionalnim odnosima poklanjamo našu najveću pažnju. Nama je danas poznato da stanice karcinoma pokazuju metabolizam koji se bitno razlikuje od metabolizma normalnih stanica. Kod toga se ne radi samo o kvantitativnom povećavanju metaboličnih procesa zbog povećane potrebe energetičkih

izvora za rad i razmnažanje nego o bitnim kvalitativnim promjenama, koje čitavo odvijanje životnih procesa u takvoj stanici skreću u posve drugom pravcu.

Pokazalo se naime da u tumorskim stanicama tek znatno forsirana glikoliza omogućuje stvaranje energetskih izvora neophodno potrebnih za patološko bujanje novostvorenoga tkiva. Zato C. G. SCHMIDT s pravom smatra upravo ovu glikozu kao prvi znak promijenjenoga celularnoga metabolizma kod tumora. S druge strane je već davno poznato da je u svim tumorskim stanicama znatno uvećana količina mliječne kiseline, koja nas upućuje na anaerobne metaboličke procese što se odvijaju u samoj protoplazmi i koje po karakteru njihova vrenja moramo označiti kao niži stupanj dobijanja energetskih izvora u živoj stanici od aerobnih oksidativnih procesa. Iako je u oba slučaja krajnji biokemijski efekat procesa u obliku adenosintrifosfatne kiseline jednak, on se u biološkom smislu bitno razlikuje. Dok smo, naime, u mogućnosti da takav kemijski proces kakav se odvija pri vrenju u transformiranoj protoplazmi stanica potpuno analogno izvedemo i u eksperimentu in vitro, posluživši se pri tome čistim topivim fermentima, u procesu oksidacije nam to uspijeva samo u slučaju ako se pri tome poslužimo dijelovima žive stanice: mitokondrijima. Ove granule, koje su i morfološki dobro okarakterizirane, kako to sad znamo iz promatranja na elektronskom mikroskopu, sastoje se iz molekula određenih fermenata, koje za sada još in vitro ne možemo izdvojiti i bez kojih nema oslobađanja vodikovih iona i njihova spajanja s kisikom, dakle oksidativnog procesa što ga nazivamo respiracijom. Ali su te granule neobično osjetljive na svoju funkciju, što vjerojatno proizlazi iz njihove neobično složene i komplicirane strukture. Nama još doduše nije poznato na koji način i u kojem su redosljedju ove molekule različitih oksidativnih fermenata poredane u mitokondrijima, ali možemo lako zamisliti da već i neznatne nokse, kao što je npr. nedostatak hranjivih tvari i kroz kraće vrijeme, dovodi do poremećaja njihove funkcije. Taj gubitak funkcije ireverzibilan je proces, kako je to OTTO WARBURG u svojim istraživanjima o celularnoj respiraciji utvrdio još prije gotovo pola stoljeća. Zahvaljujući usavršenim metodama promatranja, kao što je elektronski mikroskop, za takve promjene možemo danas djelomično naći potvrdu i u promjenama morfološke strukture. Te nas činjenice ponovno vraćaju na sigurno tlo histološki utvrđenih strukturalnih promjena, koje smo jedno vrijeme zbog nedovoljnih tehničkih mogućnosti bili izgubili, a što uvijek nosi u sebi određenu opasnost odstupanja od realne podloge.

OTTO WARBURG, koji je zbog svojih istraživanja celularne respiracije dobio i Nobelovu nagradu, iznio je u predavanju održanom u maju 1955. god. u Stuttgartu svoju novu teoriju o postanku tumorskih stanica. Prema njegovim istraživanjima postat će iz normalne stanice karcinomatozna ćelija kad zbog smanjene sposobnosti respiracije bude primorana da – zbog oštećenih mitokondrija – svoje energetske izvore crpe anaerobnim biokemijskim procesima, dakle vrenjem. To je dugotrajan pro-

ces, u kojemu najveći broj takvih stanica propada jer nije u stanju da se prilagodi novim uvjetima života i da se vrati na primitivni način dobijanja životne energije. Samo rijetke od pogodnih stanica uspijevaju da svoje oksidativne procese u dovoljnoj mjeri zamijene onim anaerobnog karaktera i da se tako održe u životu. WARBURG je na taj način veoma lijepo objasnio do sada neobjašnjenu pojavu gdjekada i veoma duge latencije kod nastajanja malignih tumora, a jednako tako i istovremeno izbijanje karcinoma na različitim mjestima jednoga određenoga područja – pojavu koja je prema starijim shvaćanjima bila do tada posve nerazumljiva.

GRAFFI je nedavno ova tvrdjenja mogao i eksperimentom potvrditi. Djelotvorni agens prenesenih kokošnjih tumora bez staničnih elemenata dokazuje da on može biti isključivo samo endogene prirode, i to vrlo vjerojatno iz maligno promijenjenih mitokondrija. On je već 1949. god. pokušao da u nekim granulama, koje se uvijek pojavljuju kod raspada mitokondrija u malignim stanicama, prepoznata posljedice upravo ovakve plazmatske mutacije normalnih mitokondrija. Kako su pak mitokondriji mnogo otporniji od same stanice, te mogu neko vrijeme živjeti i nakon njezine smrti, kako je to lijepo u svojim radovima dokazao SEYFERTH, to je njihovo širenje u limfnom i krvnom optoku lako razumljivo kad znamo da oba, a naročito krvni serum, predstavljaju idealne vehikle za metaboličke procese. I zaista su SCHELLER i mnogi drugi autori u krvi bolesnika oboljelih od raka mogli utvrditi konstantne i veoma polimorfne submikroskopske granule, veoma slične virusima, u kojima naziru ostatke tako izmijenjenih mitokondrija. Ti su nalazi našli svoju potvrdu i u istraživanjima što ih je 1954. god. dr HELENA TOOLAN vršila u krvi dobrovoljaca jedne američke kaznonice, koji su si dali ucijepiti ljudske karcinome.

Ti nalazi otvaraju nove vidike u problemu karcinoma i znatno proširuju naše znanje, pogotovo otkako je dvojici biokemičara s Berkeley univerziteta uspješno duhanski mozaik-virus kemijski razgraditi i kasnije ga ponovno sastaviti u živu supstanciju. A ove tzv. »tumorske« granule i odviše liče na neke oblike danas poznatih virusa, a da ih ne bismo barem pokušali dovesti s njima u neku vezu. To znači, drugim riječima, da su promijenjeni mitokondriji u kauzalnoj vezi s postankom karcinoma ili da rješenje problema postanka malignih tumora moramo tražiti u problemu mitokondrija. Da li se kod toga u krajnjoj liniji radi o nekoj virusnoj infekciji, kako to neki pokušavaju dokazati, ili o mutaciji same stanice, kako to nazrijevaju drugi, danas je još nemoguće ustvrditi.

Postavlja se sada pitanje koje su to antikancerozne supstancije kojima raspolaže naše tijelo u obrani protiv maligne degeneracije svojih stanica? Ovdje se u prvom redu spominju limfatični i krvni sistem u cjelini, a da se kraj toga ne imenuju one specifične tvari koje bi trebale da djeluju antikancerozno. I dok jedni tvrde da se radi o humoralnim produktima (IVASAKI, TADENUMA), drugi njihovo djelovanje pripisuju isključivo celularnim elementima, uglavnom limfocitima (DA FANO, MURPHY). Kao

dokaz za ovu posljednju tvrdnju autori navode činjenicu što oko svakoga žarišta tumoroznih stanica nalazimo uvijek nakupine limfocita i što se u regionalnim limfnim žlijezdama pojavljuju pojačani folikuli, proliferacija retikularnih stanica i endotela, jednom riječju hiperplazija strukturalnih elemenata, koja redovno prethodi pojavi samoga malignoga procesa. Sve ove reaktivne pojave treba da služe kao dokaz da upravo limfatični sustav igra aktivnu ulogu u suzbijanju malignoga procesa. Nasuprot tome, za humoralno antikancerozno djelovanje navodi se činjenica da kanceromatozne stanice injicirane eksperimentalno u krvni optok često brzo propadaju i što u na taj način nastalim embolusima u plućnim venama stanice karcinoma pokazuju vakuolizaciju i različite druge znakove brze degeneracije. Osim toga, inokulirani karcinomi znatno se brže šire i prave znatno veći broj metastaza kod iskrvarenih životinja nego kod onih s normalnom količinom i normalnim sastavom krvi. Možda bismo ovamo mogli ubrojiti i činjenicu da su životinje poslije preboljenih operativnih zahvata ili drugih jakih stresova više prijemljive za inokulaciju tumora od onih koje se nalaze u punom zdravlju.

Ali, iako svi ti faktori ne pružaju dovoljne dokaze za sigurno antikancerozno djelovanje, bilo humoralnih, bilo celularnih elemenata, to ipak nije propuštena prilika da se i ove činjenice ne pokušaju iskoristiti u borbi protiv tumora. Tako je PODVINEC davanjem ekstrakta limfnih žlijezda goveda pokušavao da stimulira produkciju limfocita i da tako djeluje na smanjivanje tumora. On je kod toga stekao uvjerenje da karcinomom kod takvih bolesnika pokazuju znakove degeneracije i da mnogo bolje reagiraju na zračenje nego oni kod kojih limfocitarni aparat nije bio stimuliran ovim ekstraktom. ĐUROVIĆ je pak uzeo kao polaznu tačku otkrića FREUNDA i KAMINERA, koji su našli da krvni serum zdravih ljudi ima sposobnost da citolizira in vitro stanice karcinoma, a da tu sposobnost posve gubi kod ljudi koji boluju od raka. Kad su kasnija istraživanja ove navode potvrdila i još dalje razradila, i kad su BRUDA i PFEIFFER našli da kod toga vjerojatno retikuloendotelijalni sistem igra presudnu ulogu. ĐUROVIĆ je, stimulirajući taj sistem kod konja s ekstraktom *actinomyces bovis*, priredio preparat iz takvoga konjskoga seruma. Taj preparat, koji se danas nalaze u prometu pod imenom krebiozen, treba – prema navodima IVYA i saradnika – da sadržava te naravne antikancerozne humoralne supstancije u pojačanoj mjeri i da tako sprečava rast malignih tumora kod čovjeka.

I mi smo na našoj Klinici također redovito nalazili kod karcinoma relativnu hiperglobulinemiju, što bi također govorilo za pojačano djelovanje retikuloendotelijalnoga sistema kod malignih procesa (KRAJINA).

Ali i WARBURGOVA otkrića nisu ostala neiskorištena u terapeutske svrhe. Polazeći od pretpostavke da je ireverzibilno oštećenje oksidativnih fermenta na mitokondrijima prvotni uzrok znatno smanjene respiracije, zbog čega je takva stanica, da bi se mogla uopće održati na životu, morala prijeći na sintezu svojih vitalnih izvora putem vrenja, pokušalo se taj proces sprečavati djelovanjem različitih spojeva koji su

poznati da negativno utiču upravo na takav metabolizam. To su pored već ranije poznatih respiratornih otrova naročito različiti derivati kinonske skupine, kao što su etileniminkinoni (kao npr. Bayerovi E-39 i trenimon). Dok etilenimini remete polimerizaciju, koja uvijek prethodi predmitotičnom stadiju u stanici, kako je to dokazao HEILBRUNN, kinoni direktno sprečavaju mitozu, kako su to utvrdili LEHMAN, MEIER i ALLGÖWER. Oni djeluju direktno na fermente koji su neophodni za odvijanje vitalnih procesa i prema tome pogadaju stanicu na njeno najosjetljivije mjesto. Znamo da u stanicama koje postepeno dobivaju karakter tumora raste heksokinaza, koja povećanu količinu glukoze u prisustvu adenosin-trifosforne kiseline pretvara u robinsonester glukoze-6-fosfata. Taj proces prati znatno smanjena količina hemina: citohroma i citohromoksidaze, te katalaza uopće. Kako tumorske stanice za golo održavanje života trebaju veoma malo energije, uostalom kao i sva ostala primitivna i jednostanična bića, a kako se njihov potrošak energije kod patološkoga umnažanja enormno uvećava, to možemo s pravom očekivati da ćemo upotrebom ovakvih sredstava uspjeti spriječiti bar njihovo umnažanje, ako i nećemo uspjeti da ih potpuno uništimo. DOMAGK je dokazao da preparat E-39 još u razrjeđenju od  $10^{-7}$  sprečava in vitro rast tumorskih stanica, a gdjekada da ih i potpuno uništava. Međutim je za nas od mnogo većeg interesa činjenica da je analogno citostatično djelovanje taj preparat pokazao i u eksperimentu na životinjama cijepljenim malignim tumorima. Od naročitog je interesa činjenica da je kod nekih došlo do potpune regresije tumora, kod čega je – uz nestajanje karcinomatoznih stanica – paralelno išlo stvaranje vezivne kapsule i strome, te pojava mnogobrojnih golemih stanica. Posve analogan proces mogli smo promatrati i kod regresije nekih karcinoma tretiranih Podvinčevim ekstraktom limfnih žlijezda i istovremeno zračenih, a on je u principu posve jednak promjenama što ih KONJETZNY još 1918. god. opisao kao karakteristične za spontanu regresiju karcinoma želuca.

Iako još kod toga nikako ne možemo smatrati da smo timi naprijed spomenutim i drugim sličnim sredstvima dobili u ruke neko sigurno i suvereno sredstvo za uništavanje tumora, istraživanja s tim u vezi znatno su unaprijedila naše znanje o biti tumoroznoga procesa i u mnogome korigirala naša ranija gledanja. Ali što je najvažnije, kod njihove se primjene pokazalo – uostalom slično kao i kod nekih drugih hormona – da se opće stanje napadnutoga organizma znatno podiglo, da je upotrebom tih sredstava brzo nestalo simptoma kaheksije ili da se ona osjetno smanjila, da su bolovi popustili ili su posve prestali i da je bolesnik naglo dobio na težini i tako došao u mnogo povoljniju fizičku kondiciju, kako bi lakše mogao podnijeti eventualni kirurški zahvat ili zračenje. Te smo pojave viđali kod davanja Podvinčeva limfnoga ekstrakata, a naročito redovito kod administracije krebiozena. Tu je bilo slučajeva gdje su bolesnici u roku od nedjelje dana dobili do 5 kg na težini, a da se kod toga nipošto nije radilo samo o retenciji vode u organizmu. Iz toga smo izvukli iskustvo da davanje tih sredstava znatno unapređuje našu uobiča-

jenu kiruršku ili radio-terapiju malignih tumora direktnom aktivacijom općih rezervnih snaga organizma i bez obzira na njihovo eventualno direktno antikancerozno djelovanje.

Njihova je aplikacija u pojedinim slučajevima bila toliko snažna da je i posljednje rezerve otpornih snaga mobilizirala. Opažali smo teško kahektične slučajeve koji su se redovitom aplikacijom tih sredstava kroz 10 do 14 dana stalno popravljali, a nakon takvoga uspona opće kondicije odjedanput, tako reći preko noći, nastupio je opći slom i smrt. To nas je poučilo da smo poboljšanje koje je nastupilo upotrebom tih sredstava svakodnevno veoma pomno pratili i da smo pristupali operativnom zahvatu i prestajali s aplikacijom čim smo opazili da je ascendentna krivulja poboljšanja došla do svoje stagnacije. Taj opći slom svih otpornih snaga, koji je nastupio naglo i nezadrživo, samo nam je još jedan dokaz više za činjenicu da u karcinomu imamo gledati bolest koja zahvaća organizam u cijelosti, a ne samo neko lokalno oboljenje.

Da bismo mogli bolje odgovoriti na pitanje što smo ga postavili u početku ovoga našega raspravljanja, potrebno je još da se kratko pozabavimo načinom širenja tumora uopće, a napose u regiji vrata. Kod toga je potrebno posebno istaknuti da se to širenje u početku ne zbiva direktnim uništavanjem okolnoga tkiva, nego smjerom manjega otpora, dakle preformiranim slobodnim tkivnim pukotinama ili perivaskularnim i perineuralnim prostorima. Nema pouzdanih znakova da bi maligne stanice direktno uništavale stanice okolnoga tkiva nekim svojim posebnim heterolitičkim fermentima. One svojim naglim umnožavanjem tek sprečavaju dovod prehrambenih elemenata, te na taj način uvjetuju degenerativne pojave i atrofiju u okolnom arealu. Naročitu prepreku njihovu širenju stvaraju neke čvrste formacije, kao što su različite kapsule, perihondrij i periost, perineurijum, hrskavica i elastična vlakna, koja su naročito otporna. Upravo ovim posljednjima moramo zahvaliti činjenicu što arterije, a napose karotida, toliko dugo mogu odolijevati prodiranju tumora.

Nema sumnje da maligne stanice produciraju topive metabolite, kao što je to npr. mliječna kiselina, melanin, glikogenske granule itd. koji u okolnom zdravom tkivu izazivaju izvjesnu reakciju ovisnu o anatomskim prilikama zahvaćene regije. Ta se reakcija javlja već u najranije doba razvitka tumoroznog procesa i u njoj dominiraju elementi limfatičnoga ili retikuloendotelijalnoga aparata, odnosno veziva. Oni mogu opkoljavati maligni proces, ali mogu biti razasuti i unutar tumora po samoj strmi. Njihovo prisustvo dozvoljava samo veoma ograničen zaključak u pogledu maligniteta samoga procesa. Iako je ono ovisno isključivo o količini prisutnih metabolita malignih stanica, zbog velike raznolikosti tih produkata i veoma različitih mogućnosti lokalne reakcije morfološki nalaz iz različitih reaktivnih elemenata jedva je podesan za stvaranje bilo kakvih zaključaka u tom pogledu. Jedino nalaz većega broja eozinofila daje naslućivati da je među malignim stanicama došlo do nekrotičnog procesa, kako je to prvi iznio još 1907. god. KAPPIS, i da je produkcija

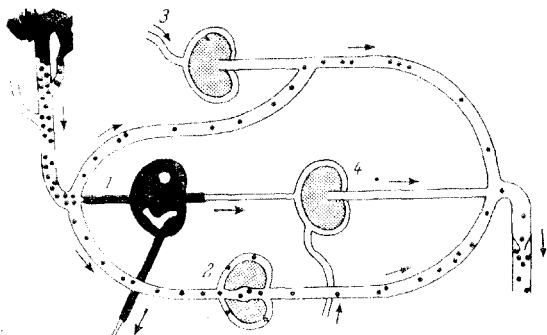
mliječne kiseline zbog toga naročito uvećana (BATTAGLIA). Veću budućnost za mogućnost ranog određivanja malignoga procesa i njena intenziteta otkriva nam upotreba različitih izotopa, napose radioaktivnoga fosfora. Njegova fiksacija u stanici raste uporedo s jačinom metabolizma, pa će tako maligne stanice sa svojim znatno ubrzanim metaboličkim procesima pokazivati jako pozitivnu bilancu radioaktivnoga fosfora, što ćemo moći očitati na Geigerovu brojaču. Iako su prvi pokušaji u tom pogledu stari već 20 godina (MARINELLI i GOLDSCHMIDT), tek su rezultati iznijeti na atomskoj konferenciji u Ženevi 1955. god. naročito ukazali na mogućnost njihove uspješne kliničke primjene.

No problem koji se nakon svih tih saznanja o biti i razvitku malignoga procesa pred nas kao kirurge prije svega postavlja jest jedna temeljita revizija našega pogleda u funkciju limfnih čvorova kod tumora. Mi smo bili vični, još od VIRCHOWLJEVIH vremena, da u njima gledamo filtere koji ne samo zadržavaju nego i uništavaju agresora, sprečavajući tako i njegovu dalje širenje. Polazeći s takvoga stajališta, mi smo kod naših operativnih zahvata naročitu pažnju posvećivali limfnim čvorovima i njih ekstirpirali uvijek onda kada smo pretpostavljali da je invazija malignih stanica nadvladala otporne snage i da je na taj način konkretna žlijezda ne samo izgubila svaku obrambenu moć nego je ona, nasuprot, postala novi izvor za dalje širenje malignoga procesa. Pri tome smo vjerovali da se širenje malignoga tumora iz njegove primarne lokalizacije vrši prvenstveno limfnim putovima, pa smo stoga upravo na njihov tok skoncentrirali svu našu pažnju, a posve smo zanemarivali sve druge vrste okolnoga tkiva, najčešće i ne pomišljajući na to da je ono jednako tako izloženo invaziji malignih stanica. Izgleda da je HANDLEY jedan od glavnih krivaca za takvo gledanje. On je, naime, opisao perilimfatičnu fibrozu koja obuhvaća limfnu žilu zahvaćenu tumorom i svojim daljim rastom navodno dovodi na kraju do njene potpune obliteracije. Na taj način bi se stvorio prstenasti zid oko tumora, a pojedine maligne stanice koje su ostale izvan toga prstena bile bi uništene. Međutim, iako su kasnija istraživanja ove HANDLEYEVE navode potpuno opovrgla, utvrdivši brzo propadanje reaktivnoga veziva i naglo povećavanje broja malignih stanica, uvjerenje o aktivnom zaštitnom djelovanju limfnih žlijezda i žila brzo se raširilo u kirurškim publikacijama i zauzelo dominantan položaj u shvaćanju operatera.

Ova se obrambena funkcija limfnih čvorova pripisivala znatno usporenom toku limfe u području marginalnih sinusa, djelovanju mreže sinu-sendotelija, dokazanom fagocitozom fiksiranih i slobodnih retikularnih stanica te sužavanju prohodnosti limfnih žila zbog sekundarnih inflamatornih promjena i taloženja fibrina u njihovu lumenu.

ZEIDMAN i BUSS su na životinjama pratili metastaziranje tumora u limfnim žlijezdama. Oni su mogli na kunićima utvrditi da se karcinomatozne stanice šire u tributarним limfnim čvorovima u određenom redosljedju. Prema tim autorima tek kad su tumorske stanice zaokupile prvu žlijezdu u cijelosti i posve ispunile njen marginalni sinus, tek tada se u određenom

vremenskom razmaku invazija nastavila i u slijedeću po redu limfnu žlijezdu istoga područja. Na taj način je širenje malignoma bilo usporeno, i to je kod njihovih pokusnih životinja takvo prelaženje jednoga limfnoga čvora trajalo oko 3 nedjelje. AURER i SCHILLING opažali su nakon radikalnoga odstranjivanja tributaruih limfnih žlijezda uvećani broj metastaza u unutrašnjim organima pokusnih životinja, veći nego kod kontrolnih grupa. PICQUET je također opažao povećani broj metastaza u medijastinalnim žlijezdama kod bolesnika nakon izvršene radikalne resekcije na vratu.



Skica 1. Shematski prikaz kretanja karcinomatoznih stanica u skupini regionalnih limfnih čvorova prema Sträuliu

Naša opažanja nisu u skladu s naprijed navedenim tvrdnjama. Za povremenu pojavu medijastinalnih metastaza poslije izvršene radikalne resekcije ne bacamo krivnju na odstranjivanje velikoga broja regionalnih limfnih čvorova na vratu, nego na činjenicu što je maligna infiltracija bila već dosegla medijastinalne žlijezde prije izvedenoga radikalnoga zahvata i tamo stvorila latentne metastaze, koje su nakon nekoga vremena postale manifestne. Ispravnost zaključaka do kojih su došli ZEIDMAN i BUSS demantiraju kod čovjeka naši mnogobrojni histološki nalazi kao i operativno iskustvo. Nije rijedak slučaj da pri uklanjanju infiltriranih čvorova perijugularne, odnosno perikarotične regije nalazimo između zahvaćenih čvorova i primarnoga tumora niz žlijezda koje su proste od maligne invazije ili u kojima na preparatima nalazimo tek pojedine maligne stanice, koje su u momentu fiksacije bile samo u prolazu kroz dotičnu žlijezdu, ne ulazeći u uži kontakt s njenom stromom. Da upravo takvi nalazi odgovaraju i funkcionalnim odnosima same žlijezde, lijepo je objasnio STRÄULI na skici koju ovdje iznosimo.

Iz svega ovoga izlazi da nije ni do danas uspjelo, i pored velikoga broja autora koji su savjesno pratili razvijanje malignih tumora, pronaći nijedan objektivni dokaz za obrambenu funkciju limfnih žlijezda u naprijed navedenom HANDLEYEVU smislu (WILLIS). Jedino je kod karcinomatoznih embolija u plućima M. B. SCHMIDT mogao opaziti vezivnu inkapsulaciju metastaza, koja bi donekle odgovarala klasičnom HANDLEYEVU opisu.

Ako se polazi od činjenice da se maligni tumor prvenstveno širi smjedom najmanjega otpora, posve je jasno da proliferaciju iz primarnoga žarišta moramo jednako tako očekivati u muskulaturi i tkivnim pukotinama okolnoga veziva, mišićnoga i masnoga tkiva kao i u žilnom, limfnom i kardiovaskularnom sistemu. Ali dok se u prvom slučaju susrećemo sa širenjem uglavnom per continuitatem, u krvnom i limfnom sistemu stvaraju se vrlo brzo i udaljene metastaze, budući da polagani tok limfe i samo nešto brži venoznoga optoka omogućuje brzo širenje malignih stanica i na duža rastojanja. Da kod toga 50% svih metastaza malignih tumora upravo nastaje limfnim putem, i to uglavnom u limfnim čvorovima, objašnjava nam činjenica što je brzina limfnoga optoka otprilike 10 puta polaganija od onoga u arterijama. Sigurno i sama građa limfne žlijezde s njenim marginalnim, intermedijalnim i medularnim sinusima, te mnogobrojne valvule u superficijelnim limfnim žilama (OGO), još više usporuju ionako polagani tok limfe. Pored toga izgleda da i endotel limfnih žlijezda sa svojim širokim intercelularnim pukotinama ne stvara onakvu prepreku za naseljavanje malignih stanica kao što je to slučaj s filogenetski starijim pa tako i manje osjetljivim endotelom vena i arterija. Sve to zajedno pogoduje fiksaciji lutajućih malignih stanica i tako stvara glavni preduvjet za prvenstveno širenje malignih procesa u limfnom optoku.

Poslije limfnoga optoka najčešće je širenje malignih stanica u venoznom sistemu. One ulaze u njega ili putem limfe, stvarajući tako udaljene metastaze, ili obavijaju stijenku, prodirući u nju limfnim i tkivnim pukotinama, i stenoziraju na taj način njen lumen, a da sam endotel još dugo vremena ostaje intaktan (GOLDMANN, HEDINGER). Pri tome otporna elastična vlakna u mediji stvaraju još dugo branu prodiranju malignih stanica. Kod direktne invazije u sam lumen brzo se na mjestu površne destrukcije stvara trombus, u koji postepeno prodiru maligne stanice potpuno ispunjavajući čitav lumen. Već je Amerikanac GEORGE CRILE, jedan od pionira radikalne resekcije na vratu, u svojem članku »Excision of cancer of the head and neck« u 47. godištu časopisa Journal of the American Medical Association u god. 1906. upozorio na činjenicu da je vena jugularis često obuhvaćena tumorom kod raznih karcinoma, pa je ST. CLAIR THOMPSON s pravom istakao da ekscizija nutarnje jugularke predstavlja ključ za uspješnu radikalnu resekciju na vratu. Limfne žlijezde i putovi ne samo da intimno obavijaju jugularku nego neke limfne žilice direktno utiču u nju i tako ostavljaju široko otvoren put malignim stanicama i u venozni optok (GOLDMANN). Kraj toga je sama stijenka ju-

gularke samo iznimno zahvaćena tumorom. Mi je u našem materijalu nismo nikada zapazili. Vjerujemo da je tome uzrok gotovo redovna induracija njezine stijenke, koja nastupa kao posljedica sitnostanične upalne infiltracije, što je gotovo uvijek nalazimo u jugularke impaktirane ili opkoljene tumorom. Uporedo s induracijom ide izdužavanje lumena i stvaranje tromboze zbog usporavanja krvnoga protoka. Ova činjenica samo još više opravdava resekciju vene. Naprotiv, kod karcinoma štiti- njače jugularke je često zahvaćena, jer maligne stanice u nju dospijevaju krvnim putem, a ne proliferacijom stijenke. Mi u pravilu vršimo uvijek eksciziju jugularke, kad god je nađemo slijepljenu s okolnim karcinoma- toznom žlijezdama, a da pri tome, osim prolazne cijanoze ili istostranoga edema, nismo vidjeli nikakvih loših posljedica, pa ni onda kada smo tak- vu ligaturu morali izvršiti obostrano.

Samo iznimno prodiru maligni tumori i u same arterije, a sasvim je to rijetko slučaj s karotidom. Često možemo opaziti intaktne arterije pa i arteriole kako prolaze kroz masivnu tumoroznu masu potpuno neok- njene. BECK i WILLIS opisali su tu pojavu za karotidu i njene ogranke, a i mi smo je mogli često zapaziti u našim operativnim zahvatima. Ali ne samo da je stijenka karotide veoma otporna na svaku invaziju malignih stanica nego je ona i veoma elastična u svojem uklanjanju od svakoga pritiska. Tako sam nedavno imao priliku da operiram neurinom na vratu 40-godišnjega čovjeka. Tumor koji je imao veličinu dječje glave daleko je bio izbočio karotidu lateralno, a da se kraj toga mogao veoma lijepo od nje izolirati. Do destrukcije stijenke i eventualne rupture karotide, što smo je doživljavali kod egzulceriranih velikih tumora na vratu, i spou- tano i postoperativno, nakon njezina izluštavanja iz tumorozne mase kojom je bila opkoljena, uvijek je došlo zbog sekundarne infekcije, a ni- kada zbog samoga malignoga procesa. Na tu činjenicu već je upozorio ASKANAZY 1912. god. Upalna infiltracija nastupa najprije kao reakcija okolnoga tkiva na tumoroznu infiltraciju, prožima arterijelnu stijenku u širokom arealu, omlohavljuje vlakna u elastičnom sloju i razdvaja mi- šične fibrile, te na taj način znatno slabi njenu otpornost i priprema put za mogućnost arozije, odnosno rupture. Pa čak i u slučajevima s veoma uznapredovanom strikturom njena lumena, kod histološke pretrage same stijenke nikada nismo u njoj mogli pronaći maligne stanice, nego samo upadne promjene zbog nadiruće infekcije. Hoće li u takvim slučajevima nadvladati fibroza stijenke ili upalna gnojna infiltracija, zavisi u prvom redu od opće kondicije bolesnika i o stanju operativne rane.

Ali još mnogo lakše nastupa takva upala u stijenci karotide kada smo je morali raskriti ili izluštiti od adherentnih tumoroznih masa pri radikalnoj resekciji. Oštećenje perikarotične živčane mrežice koja diri- gira ishranom stijenke, a čiju povredu ne možemo kod toga posla izbjeći, još pojačava destruktivni proces i povećava mogućnost rupture. Opa- snost se naročito pojačava ako poslije radikalne resekcije podvrgnemo operiranu regiju postoperativnom zračenju. U tom je slučaju razgolice- na stijenka, iako je prekrivena kožom, naročito izvrgnutā oštećivanju, koje

se očituje ne samo u reaktivnoj situostaničnoj infiltraciji, induraciji i stenozni lumena nego zbog sekundarne postoperativne lokalne reakcije u potenciranom raspadu elastičnih elemenata, kojem neminovno slijedi brza rotura. Poučeni takvim iskustvom, mi smo kod radikalne resekcije odustali od postoperativnoga zračenja, a ukoliko smo primorani da operiramo u već zračenom području, uvijek ligiramo karotidu već za vrijeme operativnoga zahvata. Treba naročito istaknuti da smo između 32 takva slučaja što smo ih imali u posljednjih 5 godina samo dva puta doživjeli prolazne hemipareze. Pri tome treba osobito paziti da ostanu sačuvana istostrana arterija vertebralis. U slučajevima gdje je ona makar i u nekom kasnijem zahvatu, možda kod uklanjanja naknadnoga recidiva ili prevertebralne metastaze, morala biti podvezana, uvijek je rezultirala kompletna hemiplegija suprotne strane. Histološka pretraga resecirane karotide uvijek je kod preoperativnoga zračenja pokazivala induraciju stijenke s jako suženim ili već i posve opturiranim lumenom, što nam dovoljno objašnjava činjenicu da su bolesnici njen prekid mogli podnijeti bez ikakvih teških posljedica.

Nema sumnje da je za izvjestan broj komplikacija koje nastupaju kao posljedica manipulacija na karotidi svakako kriva i osjetljivost sinusa karotikusa. PARRY je već 1799. god. opazio da pritisak na karotidu može usporiti srčani ritam, a poslije njega opisana su razna hiperreflektorična stanja pa i smrtni slučajevi uzrokovani morfološkim promjenama u području račvišta. DE CASTRO je prvi upozorio na veliko bogatstvo živčanih izdanaka u adventiciji račvišta i početnoga dijela nutarnje karotide, koji sa svojim krajnjim izdancima poput mrežice obuhvataju intersticijske stanice, gdje je prisustvo Nisslovihi tjelešaca (granula) i njihova oxydase-reakcija i peroxydase-reakcija odala njihovu ganglijsku strukturu. MEIJLING je zaključio da se tu radi o autonomnim ganglijskim stanicama, a kod nekih od njih je otkrivena direktna veza sa senzibilnim ograncima IX i X moždanoga živca. Na taj način je pronađen put za postanak čitavoga niza refleksa, koji mogu u nekim prilikama ugroziti i sam život dotičnoga individuumu. U normalnim uvjetima ti refleksi reguliraju pravilnu opskrbu krvlju organa koje snabdijeva arterija carotis i reagiraju i na najsitnije razlike krvnoga tlaka u području račvanja karotide. Zato ih i nazivamo presoreceptorima. Druge pak ganglijske stanice, u području paragangliona, osjetljive su na promjene u kemijskom sastavu krvi, pa su zato i prozване kemoreceptorima. Neposredna blizina jednih i drugih uvjetuje povezanost funkcija dšanja i krvotoka. Od patoloških refleksa poznati su nam danas kardioinhibitorni ili vagalni, depresivni s adrenalinom i cerebralni. Taj je posljednji neosjetljiv na adrenalin i na atropin. Njegovi su simptomi: prolazna sljepoća, nesiguran hod, napadaj vrtoglavice i popuštanje muskularnoga tonusa. Tome pridolazi gdjekada atonija mokraćnoga mjehura i pojačana peristaltika crijeva s proljevima. Takva hiperrefleksija javlja se samo izuzetno kod mladih ljudi, ali je relativno česta u starosti, a napose kod hipertoničara, gdje dostiže impozantnu cifru i od 70 do 80% slučajeva. HAMBERGER i suradnici prvi su

opisali pad krvnoga tlaka i bradikardiju kod svake mehaničke iritacije ove refleksogene zone. STEINMANN, ILLIK i HENZI mogli su pak dokazati da psihička opterećenja mogu ove reflektorne mehanizme potpuno izmijeniti u suprotnom pravcu. U takvim slučajevima izaziva se posve suprotan efekt: umjesto do snižavanja krvnoga tlaka i bradikardije dolazi do njegova povišavanja i do ubrzavanja srčanoga ritma. Pored tih simptoma mogli smo opaziti još čitav niz pojava, kao: duboku hemikraniju, osjećaj pritiska u prsnom košu s iste strane, osjećaj snižene oštine sluha i vida, a sve smo ih mogli utvrditi kao posljedice pritiska nekih povećanih limfnih žvorova na predjel račvišta i svi su ti simptomi s uklanjanjem uzroka promptno nestali. Stoga smatramo da i anestezija račvišta pri podvezivanju karotide svakako smanjuje nagli pad krvnoga tlaka u dotičnoj atmosferi, i tako i sa svoje strane doprinosi sprečavanju ishemičnih pojava inače toliko čestih u takvom slučaju.

Muskulatura na vratu često je poprište širenja maligne infiltracije. Ona se odvija ili na uobičajeni način duž limfnih interfibrilarnih pukotina, ili – što je mnogo rjeđe – maligne stanice direktno prodiru kroz sarkolemu, nastavljajući svoje razmnažanje unutar njena omota. Pri tome one nikada ne uništavaju jezgre, nego ih samo potiskuju u stranu, a i nabubre sarkolema kao i veliki dio protoplazme često ostaju još dugo sačuvani (FUJINAMI). COLMERS je u tim stanicama pronašao napadno veliku količinu glikogena kao znak osobito pojačanih metaboličkih procesa.

Upravo ovi česti nalazi maligne infiltracije u vezivnom i masnom tkivu i u muskulaturi vrata kod ekstralaringealnih i faringealnih karcinoma bili su jedan od glavnih razloga da smo indikaciju za blok-resekcije na vratu kod malignih tumora sve više proširivali i da je danas sve češće izvodimo. Iako je van svake sumnje da limfni put predstavlja najčešće područje metastaziranja i širenja malignih procesa, to nas ekstirpacije povećanih žlijezda na vratu i tzv. odstranjivanje primarnoga tumora »u zdravom«, iz razloga koje smo naprijed naveli, danas više nikako ne mogu zadovoljiti. Tako smo kod naših zahvata često nailazili na povećane žlijezde u kojima se nije moglo pronaći ni traga tumora, a njihovo je povećanje bilo posljedica upalnih procesa proizašlih iz sekundarno inficiranih tumora. S druge strane, nalazili smo karcinomatozne stanice oko takvih žlijezda ili i u posve sitnim, naoko nepromijenjenim žlijezdama, koje zbog toga ni u kojem slučaju nisu mogle kod palpacije pobuditi našu pažnju.

Za uspješno izvođenje velikih operativnih zahvata na vratu priprema bolesnika i pravilna anestezija od presudnoga su značenja. To nam najbolje dokazuje činjenica da nismo imali nijedan smrtni slučaj kod operacije na preko 300 slučajeva velikih resekcija na vratu. Tri su faktora od kojih prijeti najveća opasnost kod takvih zahvata. To su: refleksogena zona u području račvišta karotide, poodmakla dob i loša fizička kondicija najvećeg broja bolesnika, te gubitak krvi pri samom zahvatu. U refleksogenoj zoni u području karotide već smo govorili. U normalnim prilikama taj reflektorni mehanizam, čije djelovanje utiče ne samo na

propusnost krvnih žila nego i na rad srca, kod svakoga povišenja krvnoga tlaka u art. carotis communis proširuje krvne žile u organima u akciji, usporuje srčani rad, dok kod sniženja krvnoga tlaka u toj zoni izaziva pojačanje srčane frekvencije, opću vazokonstrikciju i ispražnivanje rezervoara krvi. Kod toga pritisak izvana na stijenku karotide u predjelu račvišta izaziva jednaki efekt kao i intravazalno podraživanje. S druge strane, povećana umjerena koncentracija ugljičnoga dioksida i H-iona u krvi produbljuje preko kemoreceptora iste regije respiraciju, dok smanjena njihova koncentracija preko istoga refleksnoga luka čini disanje površnijim i sporijim. Neposredna blizina i jednih i drugih receptora uzrokuje i usku povezanost obih ovih funkcija: disanja i optoka krvi. U patološkim prilikama tumori ili upalni infiltrati mogu pritiskom na ove receptore već sniženi krvni tlak još više sniziti, a slabija prokrvljenost sinusa karotikusa može zbog prenadraženosti kemoreceptora izazvati pojačane inhibitorne impulse na centar disanja i tako prouzročiti manju ili veću anoksiju centralnoga nervnoga sistema, koja vrlo brzo dovodi do ireparabilnih promjena na ganglijskim stanicama. Razumljivo je onda da i neznatni dalji podražaj tih refleksnih lukova samim kirurškim radom na karotidi, a pogotovo s prekidom njena krvnog optoka, mogu izazvati za život pogibeljne incidente. Nadašnje, više od polovine naših bolesnika prešlo je 50 godina života i samo jedan manji njihov dio pokazivao je uređan kardiovaskularni sistem, dok je preko 3% od njih imalo izrazite znakove dekompenzacije. Opće loše fizičko stanje uzrokovano česno otežanom ishranom, a još pojačano i općom kaheksijom, umanjuju kod tih bolesnika želju za životom, stvara se ravnodušnost prema vlastitom stanju, a često i izraziti otpor prema poduzimanju bilo kakvoga liječenja, kojega i tako smatraju bezizglednim. Zato je podizanje opće fizičke kondicije i suzbijanje kaheksije i psihičke ravnodušnosti jedan od važnih faktora preoperativnoga liječenja. Poprečna vrijednost hemoglobina kod tih bolesnika ne prelazi u prosjeku 70% normalnih vrijednosti, a nije rijetko da se spušta i ispod 50% normalnoga iznosa. Zato su male u kratkim razmacima aplicirane transfuzije pored ostalih sredstava važno pomoćno sredstvo za podizanje opće kondicije. Vrijednost hemoglobina od 80% smatramo minimumom za slobodno izvođenje operativnoga zahvata.

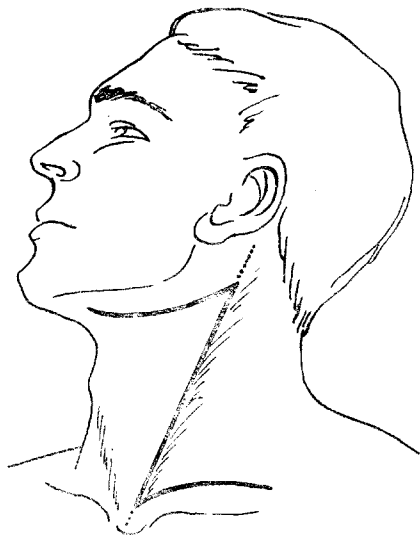
Radikalnu resekciju uvijek provodimo u intratrahealnoj anesteziji. Izvršena ispravno s pravilnom premedikacijom ovakva nam anestezija osigurava miran i siguran rad, te na taj način znatno skraćuje samo trajanje operativnoga zahvata. Nepoželjne reakcije refleksogenih zona suzbijamo upotrebom neuroplegika, koji nam jedini osiguravaju blokadu cijeloga vegetativnoga nervnoga sistema. U tu svrhu upotrebljavamo u premedikaciji mješavinu: hydergin, phenergan i petantiu, koja ne dovodi ni do tahikardije, a niti do znatnijega pada krvnoga tlaka. Upravo smo zbog toga posve odbacili upotrebu morfija, opijata, skofedala i barbiturata u velikim dozama. Restringirali smo znatno i upotrebu atropina, toga klasičnoga vagolitika, jer samo velike doze od preko 2 mg isključuju

vagalne reflekse, dok uobičajene doze samo djeluju na smanjenje sekrecije. Transfuzije čiste krvi primjenjujemo odmah od samoga početka operativnoga zahvata. Brzinu reguliramo prema stepenu gubitka, ne dopuštajući da se javne bljedilo, znojenje i pad krvnoga tlaka. Na taj način održavamo stalno normalnu koncentraciju krvi i unaprijed sprečavamo svaku mogućnost pojave hemoragičnog šoka, kao posljedice anoksije centralnoga nervnoga sistema. Transfuzije ne dajemo u punoj mjeri samo kod hipertoničara da bismo izbjegli opasnost postoperativnih krvarenja. U danima iza operacije izgubljeni tekućinu nadoknađujemo davanjem infuzija s 5<sup>0</sup>/<sub>100</sub>-tuom otopinom glukoze uz dodatak nor-adrenalina. Nor-adrenalin ne izaziva tahikardiju kao adrenalin i, što je još važnije, povećava prokrvljenost koronarki. Osim toga, njegovo se djelovanje održava i nekoliko sati poslije aplikacije. Glukoza svojim smanjenim izlučivanjem natrija čuva sastav ekstracelularne i intracelularne tekućine, sprečava raspad bjelancevina i ketonskih kiselina te omogućuje da bubrezi što ekonomičnije izlučuju vodu i što više otpadnih produkata metabolizma. Naprotiv, natrijev klorid u fiziološkoj otopini retinira vodu, pa kod oslabljene cirkulacije podržava postauak plućnog edema. Relaksaciju potreban za intubaciju postizemo leptosukcinom i kemitalom, a anesteziju održavamo eterom, dušičnim oksidom i kisikom. Nakon završene narkoze obavezno vršimo temeljitu aspiraciju bronhijalnoga stabla. Slobodu dišnih putova kontroliramo i po nekoliko puta na dan za vrijeme postoperativnoga toka, jer sami bolesnici zbog bolova izbjegavaju da ekspektoriraju sakupljeni sekret iz ždrijela i traheobronhijalnoga stabla. Davanje analgetika, ali bez kodeina, olakšat će spontanu ekspiraciju.

Ukoliko kod operativnih zahvata dolazi u obzir i laringektomija, onda operaciju započinjemo traheotomijom, koju izvodimo u lokalnoj anesteziji. U traheju umećemo specijalno konstruiranu trahealnu kanilu, čija se unutarnja cijev može lako okretati u raznim pravcima, što znatno olakšava posao anestezičara (LAKIĆ). Na donji dio kanile montiramo manšetu s balončićem koji je ispunjen zrakom, posve zatvara lumen i tako sprečava svako slijevanje krvi i sekreta iz operativnoga polja u dubinu. Kada se na kanilu priključe cijevi aparata za anesteziju i bolesniku dađe da udiše kisik, počinje se s intravenoznim ustrečavanjem 500–1.000 mg kemitala s istovremenom primjenom općeg anestetika (eter ili dušični oksidul). Kod takvoga načina aplikacije količina upotrijebljenoga anestetika vrlo je malena, a uvod u opću anesteziju prolazi s vrlo kratkom ekscitacijom ili ona uopće izostaje (LAKIĆ).

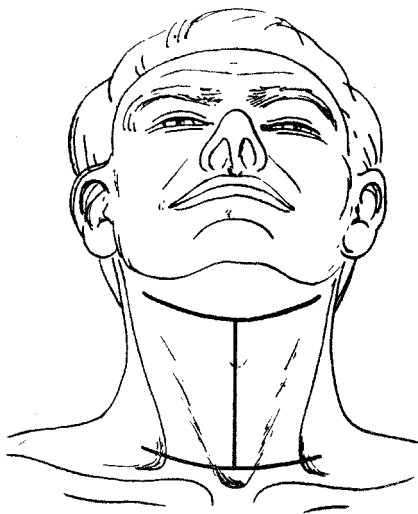
Kožni rez kod radikalne resekcije vršimo u obliku slova Z, a kad se priključuje i laringektomija u obliku dvostrukih vratnica. Kod malignih struma upotrebljavamo KOCHEROV REZ, koji u slučaju potrebe eksploracije supraklavikularne jame produžujemo dodatnim rezom prema dolje i lateralno. Prilaz u prednji mediastinum možemo proširiti resekcijom manubriuma sternuma, bez nekih kasnijih posljedica. Na taj način možemo s lakoćom prodrijeti sve do bifurkacije. To dolazi u obzir naročito

kod velikih malignih struma koje su se spustile supsternalno i fiksirale uz arkus aorte, ili kod tumora kod kojih moramo zbog infiltracije lateralne stijenke resecirati veći dio traheje. Raskrivenu karotidu treba uvijek pokriti barem kožom, ako već to ne možemo učiniti mišićem ili fascijom. Jednom otvoreni farinks ili jednjak ne treba primarno zatvarati, nego je bolje odmah formirati faringostomu, odnosno ezofagostomu i kroz nju provesti prehrambenu cijev. Na taj način sprečavamo onečišćavanje rane slinom i ubrzavamo njeno zarašćivanje. Kod totalne panlaringektomije s obostranom radikalnom resekcijom i defektom donjega ždrijela i početnoga dijela jednjaka, gdje je poslije izvedene operacije

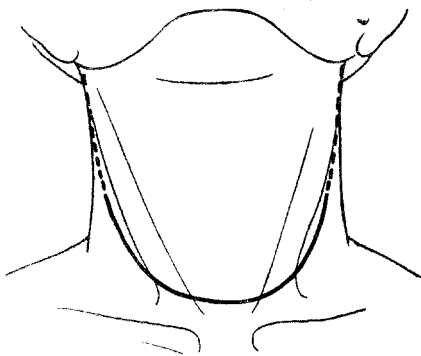


Slika 2.

u predjelu vrata preostala samo hrptenica i njena prevvertebralna muskulatura, preostalom kožom prekrivamo hrptenicu kako bi nam ta koža kod kasnije rekonstrukcije poslužila kao stražnja stijenka novoformiranoga ždrijela i početnoga dijela jednjaka. Plastičnu rekonstrukciju ždrijela i jednjaka vršimo kožnim tubulusima uzetim iz okolice. U slučaju da je koža u neposrednoj okolini rane nepodesna za takav zahvat zbog ranijega obasjavanja uzimamo je s leđa ili s trbuha, odakle formirani



*Skica 3.*



*Skica 4.*

tubulus postepeno prenosimo na vrat. Najveći problem predstavljaju peritrahéalne metastaze i recidivi ispod prevertebralne fascije, koji uvijek svršavaju loše. Zahvaćeni sternokleid treba resecirati visoko na samom mastoidu i sasvim duboko na klavikuli jer su upravo u tim bataljcima recidivi česti.

A rezultati? O njima je zaista teško dati precizne podatke. Prvo, zbog toga što smo u ovih 10 godina otkako te velike zahvate sistematski proizvodimo postepeno proširivali indikacije i dalje izgrađivali operativnu tehniku i sve više usavršavali pripremu bolesnika i anesteziju, pa stoga operirani materijal ne predstavlja podesnu masu za pravilnu statističku obradu. A drugo, što svaki statistički prikaz ovakve vrste implicira u sebi i niz nedostataka, koji ga čine tek relativno pouzdanim i upotrebljivim. Ako podemo od jedinoga ispravnoga stajališta da je maligni tumor bolest čitavoga organizma, a sama neoplazma tek lokalna manifestacija toga oboljenja u njegovu uznapređovalom stadiju, onda nam svaki statistički prikaz mora ostati nepouzdan i nepotpun. U njemu uopće ne može doći do izražaja dinamični tok bioloških odnosa karcinomske bolesti i napadnutoga organizma i otpor bolesnika prema malignom procesu u njegovoj predtumorskoj i tumorskoj fazi. Mi smo još veoma daleko od toga da sagledamo sve patofiziološke momente tih kompliciranih odnosa, i upravo u tome i leži uzrok ovim gdjekada toliko različitim rezultatima naših terapeutskih zahvata kod tumora inače jednake građe, lokalizacije i proširenosti, a kod bolesnika iste dobi i jednake kondicije. K tomu pridolaze još i naša individualna shvaćanja u procjeni pojedinih lokalizacija i proširenosti patološkoga procesa, pa i u interpretaciji histoloških nalaza, koji su neminovno odraz individualnoga gledanja svakog pojedinog autora. Sve to čini svaku našu statističku obradbu veoma nesigurnom i nepreciznom. Ako pak uzmemo da su naši bolesnici svi odreda pripadali u grupu tzv. "inkurabilnih slučajeva", koji bi prema našem dotadašnjem iskustvu bez naše operativne terapije umrli najdalje u toku jedne godine od dana kada su se nama prvi puta javili na pregled, onda nam ne samo onih nekoliko koji su preživjeli petogodišnji period opravdava naša nastojanja nego i svi oni kojima smo uspjeli produžiti život poslije operacije dulje od godinu dana, a tih je bilo preko 30%.

KRAJINA i SUBOTIĆ su analizirali naš materijal iz posljednjih 10 godina i pokušali pronaći izvjesnu zakonitost u širenju primarnih tumora određene lokalizacije u predjelu vrata. Rezultati su izneseni na priloženoj tabeli, za 5-godišnji, odnosno 10-godišnji period našega rada. Premda nam ti podaci zbog još uvijek prekratkoga vremenskoga razdoblja i neujednačene terapije što smo je primjenjivali u tom vremenskom periodu ne mogu pružiti precizne podatke, oni generalno ipak u potpunosti opravdavaju naša nastojanja. Sve veći priliv ovih bolesnika na našu Kliniku, veća ujednačenost našega rada i savršenija dijagnostika omogućit će ubuduće još pouzdanije i preciznije statističke podatke. Kod toga, naravno, ne smijemo smetnuti s uma da je i vremenski razmak od 5 go-

Malignomi vrata

Lokalizacija primarnog tumora	Od 1952. do 1957. nakon 5 godina			Od 1957. do 1962.		Svega	
	živi	mrtvi	nepoznato	živi	mrtvi	živi	mrtvi
Ca larinksa s jednostranim metastazama na vratu	1	8	—	8	17	12	25
Ca larinksa s obostranim metastazama na vratu	2	3	—	7	4	9	7
Ca hipofarinksa	2	14	10	7	7	9	21
Ca mezofarinksa	3	1	7	5	5	8	6
Ca epifarinksa	2	5	7	9	10	11	15
Ca jezika	1	7	—	1	6	2	13
Primarni malignomi vrata	1	2	1	3	10	4	12
Struma maligna	—	1	2	4	2	4	3
Metastaze tumora drugih lokalizacija	2	8	2	5	13	7	21

dina za prosuđivanje naših uspjeha jedan posve samovoljno uzet vremenski period, budući da se sve više množe poznati slučajevi koji su i nakon toga perioda umrli od svojega prvotnoga karcinoma.

A kakav je naš stav prema zračenju? On je naravno u mnogome ovisan ne samo o našem ličnom gledanju na djelovanje ionizantnih zraka nego i o tehničkim mogućnostima kojima raspoložemo na našim radiološkim institutima. Ali je jedno ipak van sumnje: da su vratni malignomi veoma otporni na djelovanje svih vrsta zračenja. U tom se danas slaže velika većina svih autora. Ja nisam u svojoj dugoj praksi vidio nikada od zra-

čenja metastaza na vratu bilo kakav uspjeh. Ta činjenica već sama po sebi dovoljno opravdava prednost operativne terapije pred svakim zračenjem. Ina, međutim, još razloga zbog kojih smo napustili svaku ionizantnu terapiju kod malignoma vrata. To je u prvom redu spoznaja da već sama manifestna pojava tumora ukazuje na činjenicu da je poremećena ravnoteža između stvaranja patoloških mitozu i antikanceroznih supstancija u napadnutom organizmu. Budući da u stvaranju i transportu upravo ovih antikanceroznih supstancija limfatični i retikuloendotelijalni aparat igraju presudnu ulogu, onda postaje razumljivo da čuvanje njihove funkcije treba da bude jedan od osnova našega terapijskoga djelovanja. A svako profilaktično zračenje, pogotovo pak ono s telekiri-terapijom, u prvom redu oštećuje upravo funkciju baš tih aparata, a da kraj toga ne sprečava njihovu prohodnost, kako je to lijepo dokazao KLEY sa suradnicima. Na taj način ne samo da se ne suzbija diseminacija karcinomatoznih stanica nego se, nasuprot, još i otvara nesmetani put za dalje njihovo širenje.

Postoje, međutim, još dva razloga koji dovode u pitanje opravdanost zračenja kod tumora na vratu. To su odnos laringealnoga skeleta i velikih žila na vratu prema ionizantnim zrakama i ponašanje stijenke karotide poslije zračenja. Poznato je da laringealni skelet prilično dugo odolijeva širenju karcinomatoznih stanica, da je potrebno dosta vremena da one prodru i u samu hrskavicu. Sasvim je to drugačije kod zračenoga larinksa. Tada se pojavljuje upalna reakcija čitavoga skeleta. Grkljan je u cjelosti zadebljan. Stvara se poznata klinička slika perihondritisa larinksa. Upalna reakcija najprije zahvaća samo perihondrij, a kasnije prodire i u samu hrskavicu. Nastupa hondroliza, koja otvara širok put invaziji tumoroznih stanica. Nešto je lakše prodiranje malignih stanica u epiglotis, gdje nalazimo gdjekada njihove dobro ograničene nakupine, koje mogu neko vrijeme ostajati latentne. Žarišta karcinoma ostaju živa i nakon intenzivne radio-terapije. Tumor se i dalje širi u teško oštećenom i nekrotičnom grkljalu, pa i nakon provedene izdašne telekiri-terapije. U rijetkim slučajevima može da dođe čak i do prodora tumora na površinu vrata. To se obično događa u samoj medijalnoj liniji na hvatištu obih štitnih hrskavica. Još je gora situacija na karotidi kako smo to već naglasili u ovom referatu. Zbog propadanja elastičnih elemenata nestaje oštre granice između adventicije i tumora, i tumori slobodno prodiru u stijenku žile, koja je tako lišena svoje najglavnije zaštite. Ali i teško oštećenje stijenke i bez infiltracije samoga malignoga procesa nosi u sebi veliku opasnost od moguće rupture, koja neminovno slijedi uvijek kad je karotida morala biti kod operativnoga zahvata izluštena iz okolnoga tkiva.

Sve su to razlozi koji su nas natjerali da smo posvema napustili zračenje takvih tumora i prije i poslije operativnog zahvata, a napose smo odustali od svakoga tzv. profilaktičnoga zračenja, koje po našem mišljenju samo još više komplicira ionako tešku situaciju.

Na kraju još nekoliko riječi o našem stavu prema izvođenju profilaktičke radikalne resekcije ili profilaktičnoga odstranjivanja limfnih čvorova na vratu kod primarnih karcinoma grkljana i ždrijela, odnosno jezika i donje usne. Takva profilaktička resekcija trebala bi, prema mišljenju njezinih propagatora, da osigura odstranjenje »latentnih« metastaza, dakle svih onih zahvaćenih limfnih čvorova koji u sebi već sadržavaju klice karcinoma, ali kod kojih još nije došlo do njihova povećavanja i tako do klinički vidljivih simptoma. Pokojni PIETRANTONI i BOCCA bili su prvi koji su još prije punih 10 godina na osnovu svojih veoma dobro fundiranih statističkih podataka uvjerljivo dokazivali opravdanost ovoga zahvata. Prema njihovim podacima povećavao se broj izlječenja nakon tako izvršene profilaktične resekcije za petogodišnji period tada od 25% do punih 64%, pa i više. Prema posljednjim iskustvima (PIETRANTONI, AGAZZI) taj se procenat popeo još više, pa je kraj 42% kod manifestnih metastaza uz sistematski provedene profilaktičke zahvate dosegao čak i 71% petogodišnjih izlječenja. Iako nas ti visoki procenti, pogotovu kad poznajemo autore, sve obavezuju, to se ipak s patofiziološkim obrazloženjem principijelnoga provođenja ovakve profilaktičke resekcije žljezda na vratu, pogotovu kod karcinoma larinksa, ne bih mogao složiti. Karcinom larinksa nema, naimе, jednaku mogućnost za širenje kao karcinomi nekih drugih šupljih organa. Tome je razlog ne samo specifična limfna mreža grkljana nego još mnogo više i hrskavični skelet, koji znatno ograničuje mogućnost komunikacije s okolnim dijelovima vrata. Zato se i vratne metastaze kod karcinoma larinksa pojavljuju tek u oko 30% slučajeva. Kod toga ni veličina, ni lokalizacija, a ni karakter primarnoga tumora ne igraju neku presudnu ulogu. Štaviše, mi smo mogli promatrati i ekscesivno velike tumore larinksa koji nisu nikada doveli do metastaza na vratu, a isto tako nismo mogli utvrditi neki određeni omjer između primarne lokalizacije i pojave metastaza. Pa čak ni histološka analiza nije nam mogla pružiti nikakav podatak za odnos diferencijacije tumora i postanka vratnih metastaza. Diferencirani tumori stvarali su u gotovo posve jednakom postotku metastaze kao i oni još histološki nediferencirani. Mi se u našoj praksi često susrećemo s karcinomom larinksa starim sigurno najmanje 6 mjeseci ili čak i više, a da ipak kod njega još nije došlo ni do regionalnih, a niti do udaljenih metastaza. Posve je sigurno da je za to vrijeme već moralo doći do prijelaza nekih malignih stanica u limfni i krvni optok, kako je to HERMANN u svojim istraživanjima posve sigurno dokazao. Znači da tu djeluju neke otporne snage koje sprečavaju širenje tumora. Tek kad one popuste, stvaraju se povoljni uvjeti za postanak metastaza i dalje širenje tumora. Mi smo isto tako više puta mogli promatrati slučajeve kod kojih su se i nakon izvršene radikalne resekcije limfnih čvorova nakon nekog vremena javile metastaze u okolnom masnom tkivu, u muskulaturi ili čak i supkutano. Iz toga moramo zaključiti da pojava metastaza na vratu ne ovisi pretežno o anatomskoj lokalizaciji tumora i njegovoj morfološkoj diferenciranosti, nego u prvom redu o reaktivnim snagama organizma.

**Metastaze na vratu** ne označavaju samo anatomske širenje karcinoma u prve tributarne žlijezde vrata nego, prije svega, opadanje ravnoteže u borbi čitavoga organizma protiv karcinomske bolesti. Jednako tako i svaka povećana žlijezda kod karcinoma larinksa ne znači uvijek i metastazu, budući da smo često nalazili takve žlijezde bez malignih stanica, čije je povećanje bilo izraz pojačane borbe organizma upravo protiv širenja i razvitka nastalog karcinoma. Promatrajući tako na velikom broju slučajeva ove patofiziološke mehanizme pokrenute u obranu od karcinomske bolesti, moramo pretpostaviti da profilaktična resekcija limfnih čvorova na vratu, koja u normalnim uvjetima i kod nepromijenjenih žlijezda predstavlja i tehnički jedan veoma složen zadatak, kao i prekidanje limfnih putova, mora oslabiti borbu protiv karcinoma, sprečavajući dovod antikanceroznih prirodnih sredstava u neposrednu okolicu primarnoga tumora. Zato se nama čini da je mnogo bolje i biološki opravdanije borbu protiv takvih pojedinačnih »latentnih« karcinomskih stanica provoditi općim podizanjem obrambenih snaga organizma, upotrebom kemoterapeutskih sredstava i lokalnim zračenjem nego mutilacijom vrata i stvaranjem brazgotina, koje onemogućuju, ili barem znatno oslabljuju, prirodnu borbu organizma protiv karcinomske bolesti.

Zaključujući ovaj naš prikaz, potrebno je da još jednom naglasimo da se ne možemo kod operacije malignoma ili njihovih metastaza na vratu danas više zadovoljiti tzv. »ekscizijom u zdravom« i ekscirpacijom tributarne suspektne limfne žlijezde, jer nam takav zahvat ne daje nikakve garancije za radikalnost izvedene operacije. Iz razloga naprijed navedenih samo blok-resekcija s odstranjivanjem i krvnih žila i mišića i masnoga tkiva pruža nam vjerojatnost zaista radikalnoga zahvata. Kod preko 300 naših slučajeva, što smo ih tako operirali u posljednjih 10 godina, nismo doživjeli nijednu smrt zbog operativnog zahvata, koji smo u pravilu provodili u intratrahealnoj anesteziji. Operaciju smo vršili u principu zajedno s primarnim tumorom, a samo izuzetno u dva ili više akata. Nismo se služili prije operacije obasjavanjem, jer smo stekli uvjerenje da djelovanje rendgenskih zraka na žljezdane metastaze na vratu ne daje nikakve nade za uspjeh. Polazeći sa stajališta da maligna degeneracija stanica povlači za sobom promjene u čitavom organizmu, mi se obilno koristimo svim sredstvima koja mogu pomoći da podignemo otporne snage organizma i da dotičnoga bolesnika dovedemo u što bolju fizičku kondiciju. Mi smo svjesni da kirurški nož ne predstavlja nikakvo biološki fundirano sredstvo za liječenje od karcinomske bolesti. Prava terapija karcinoma, bazirana na patofiziološkim elementima, leži u području celularne patologije i biokemije. Ipak se mi još za sada služimo kirurškom terapijom jer nam ona u sadanjim uvjetima pruža u našem području najviše izgleda za uspjeh. Ipak ćemo maksimalne uspjehe postići tek onda kad nam uspije da izvjesnom stabilnom koncentracijom citostatičkih sredstava spriječimo svako dalje bujanje preostalih malignih stanica razasutih u tijelu nakon izvršenoga radikalnoga zahvata. Tek onda ćemo moći reći da smo u suzbijanju malignih tumora vrata zaista postigli vidan napredak.

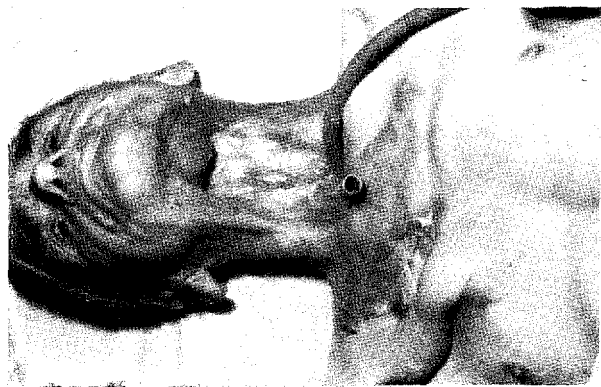
## LITERATURA

1. *Askanazy, M.*: Zbl. alg. Path. path. Anat. 386 (1912)
2. *Battaglia, F.*: Tumori 13 : 131 (1927).
3. *Beck, J.*: Hals-, Nasen- u. Ohrenarzt 28 : 9 (1937).
4. *Berkeley, C., Eden & Lockyer*: New System of Gynecology, London 1957, Vol. 2.
5. *Boeca E.*: Arch. ital. Otol. 64 Suppl. 14. 331 (1953).
6. *Bruda, B. E. & Pfeiffer, H.*: Zt. f. d. exper. Med. 68 : 116 & 554 (1929).
7. *Brunswick A.*: Surg. Gynec. Obstet. 76 : 390 (1943).
8. *Caresten A., Foekow B. & Hamberger C. A.*: Acta ORL 51 : 73 (1960).
9. *Crile, G.*: J. Am. med. as. 47 : 126 (1906).
10. *Da Fano, C.*: Zt. f. Immunitätsföschg. 5 : 1 (1920).
11. *Domagh, S.*: Deutsche Mediz. Wschr. 81 : 801 (1956).
12. *Freund E. & Komincer S.*: Biochem. Zt. 96 : 312 (1920).
13. *Goldmann, E.*: Brit. Clin. Chirurg. 18 : 595 (1897).  
*Goldmann, E.*: Lancet 1 : 23 (1906).  
*Goldmann, E.*: Proc. R. Soc. Med. 1 Surg. Sec. 1 (1907).
14. *Gušić, B.*: Acta ORL 51 : 207 (1960).  
*Gušić, B.*: Vojno-sanitetski pregled 460 (1954).  
*Gušić, B.*: Acta ORL Belgica 12 : 451 (1953).  
*Gušić, B.*: Rakovina chornich cest dychacich - Praha 130 (1959)  
*Gušić, B. & Krajina Z.*: J. franc. ORL 10 : 7 (1961).  
*Gušić, B. & Krajina Z.*: J. franc. ORL 10 : 7 (1961).
15. *Gušić, B. & Krajina, Z.*: Mschr. f. Ohrenheilk. 97 (1963).
16. *Gušić, B. & Konić-Carnelutti, V.*: Mschr. f. Ohrenheilk. 97 (1963).
17. *Hamberger, C. A., Carsten, C. & Folkow, R.*: Cancer 10 : 938 (1957).
18. *Heilinger, F.*: Virchows Arch. 164 : 199 (1901).
19. *Hermann, A.*: Arch. ONK-Heilk. 178 : 263 (1961).  
*Hermann, A.*: Mschr. Ohrenheilk. 96 : 181 (1962).  
*Hermann, A.*: J. of Laryng. e. Otol. 77 : 381 (1963).
20. *Hutchinson, J.*: Trans. Path. Soc. London 26 : 98 (1875).
21. *Ivy, A. C., Pich, J. F. & Phillips, W. F. P.*: Observations on Krebiozen in the Management of Cancer, Chicago (1956).
22. *Iwasaki, T.*: J. Path. Bact. 20 : 85 (1915).
23. *Keppis, M.*: Münch. Med. Wschr. 54 : 831 (1907).
24. *Kley W., Bouse G. & Dhom G.*: Arch. Ohr-, Nas. u. Kehlkopf. Hkld. 178 : 342 (1961).
25. *Konjetzny, G. E.*: Münch. Med. Wschr. 65 : 292 (1918).
26. *Krajina, Z.*: Chir. maxillo-facialis et plastica 1 : 134 (1957).  
*Krajina, Z.*: Acta Fac. Med. Zagrebensis 3 : 245 (1957).  
*Krajina, Z. & Subotić, R.*: Practica ORL 22 : 404 (1960).
27. *Krajina, Z.*: Acta Fac. Med. Zagrebensis 10 : 197 (1962).
28. *Lakić, J.*: Acta Fac. Med. Zagrebensis 7 : 41 (1959).  
*Lakić, J.*: Acta Fac. Med. Zagrebensis 9 : 183 (1961).
29. *Lehmann, F. L.*: Experientia 3 : 223 (1947).
30. *Mandley, W. S.*: Cancer of the Breast, London 1922.
31. *Marinelli, I. D. & Goldschmidt, B.*: Radiology 39 : 454 (1942).
32. *Meijling, H. A.*: Bau u. Innervation von Glomus Caroticum und Sinus Caroticus, Utrecht 1938.
33. *Meilbrunn*: Science 114 : 685 (1951).

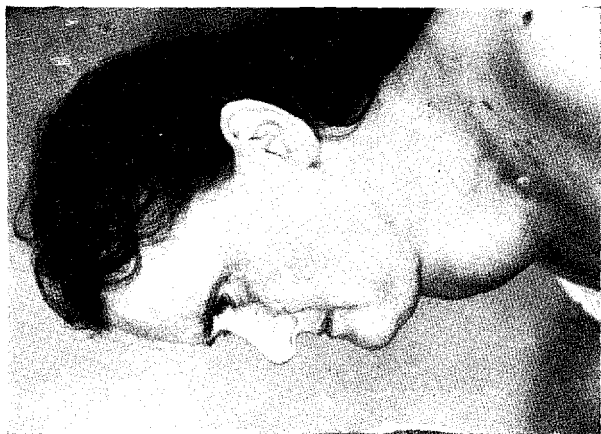
34. Meier, R. & Allgöwer, M.: *Experientia* 1 : 57 (1945).
35. Murphy, J. B.: *J. Exp. Med.* 17 : 482 (1953).
36. Ogo, M.: *Acta anat. jap.* 6 (1933).
37. Pietrantonì, L.: *Arch. ital. otol. Suppl.* 14 : 1.
38. Pietrantonì, L.: *Arch. ital. otol.* 64 : 1 (1953).  
*Pietrantonì, L.: Rev. Laryng.* 79 : 633 Bordeaux (1958).  
*Pietrantonì, L.: Ann. Otolaryng.* 76 : 420, Paris (1959).  
*Pietrantonì, L.: J. franc. otolaryng.* 7 : 907 (1958).  
*Pietrantonì, L. & Agazzi, C.: Fortschr. HNO* 9 : 275 (1961).  
*Pietrantonì, L. & Agazzi C.: Laryngoscope* 72 : 1511 (1962).
39. Piquet, J. & Piquet J. J.: *Ann. Oto-Laryng.* 76 : 700 (1959).
40. Podvinec, S.: *Acta ORL* 46 : 334 (1956).
41. Schilling, V.: *Z. ges. inn. Med.* 5 : 506 (1950).
42. Schmidt, C. G.: *Klin. Wschr.* 1955 : 409.
43. Scheild, A. M.: *Lancet*, 1 : 22 (1899).
44. Steinmann, B., Illig R. & Henzi H.: *Schweiz. Med. Wochenschrift* 85 : 35 (1955).
45. Sträuli, P.: *Oncologia* 15 : 123. Basel (1962).
46. Tadenuma, K.: *Z. Krebsforsch.* 20 : 394 (1923).
47. Warburg, O.: *Pflügers Arch.* 154 : 599 (1913).  
*Warburg, O.: Mitt. d. Max-Planck-Ges.* 1955-166.
48. Willis, R. A.: *The Spread of Tumors in the Human Body*, London 1952.
49. Zeidmann, I. & Buss, J. M.: *Cancer Res.* 14 : 403 (1954).

*Iz klinike za bolesti uha, nosa i grla Medicinskog  
 fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Predstojnik: aka-  
 demik prof. dr Branimir Gušić.*

*Primljeno na sjednici Odjela za  
 medicinske nauke 13. XI 1963.*



Sl. 1. Radikalna resekcija na desnoj strani vrata s sudi-  
vom faringotomom, ezofagotomom s prehranjenom nijsi  
i tracheotomom s kanihom. Pripremljen rezanj za rskov-  
struktijit hipofarinksa i vratnoga jednjaka



Sl. 2. Strano maligna povrtin adosteroida.



Sl. 3. Primarni egzofiltrni i egzolecitarni karcinom vrata.



Sl. 4. Egzolecitarna submuntalna metastaza zalifrebnog karcinoma donje usnice.



Sl. 7. Maligno degenerirani tumor parotidne žljezde.



Sl. 6. Regdis na gornjem lateralju atrofičnimostotidusa na-  
kon radikalne resekcije na vratu.



Sl. 7b. Bolenski sa slike 7a godinu dana nakon izvršene reoperacije.



Sl. 7a. Brozova a. Iznajm. karikatura stvorena u skladu sa slikom 7a. godine nakon izvršene reoperacije zbog karcinoma.

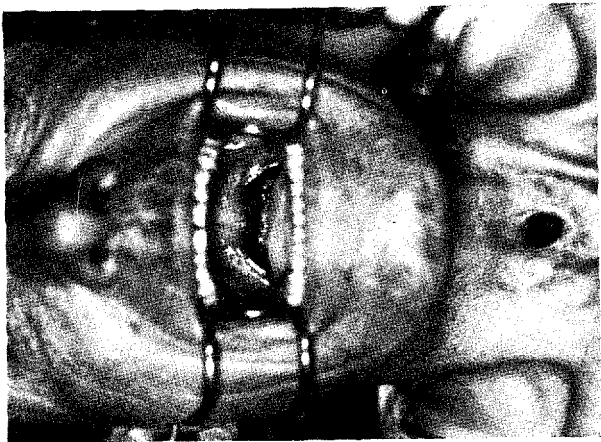


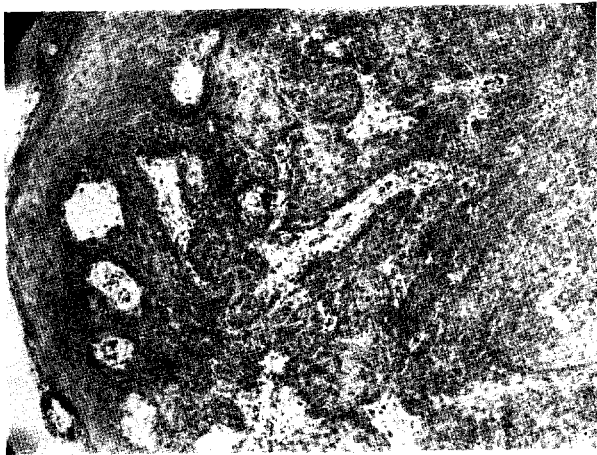
Sl. 24. Za limfomangiom lijeve lica i vrata.



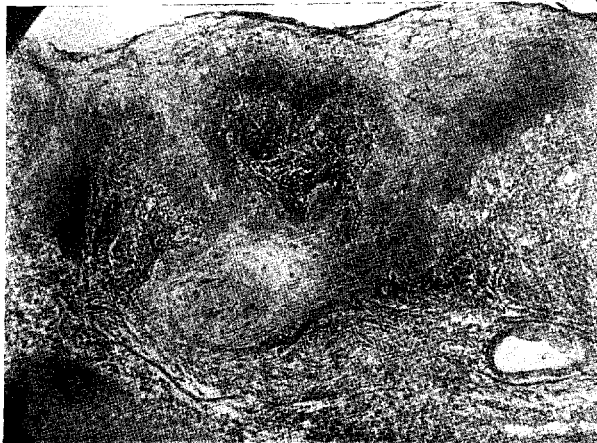
Sl. 25. Za lica parietalna nakon operacije.



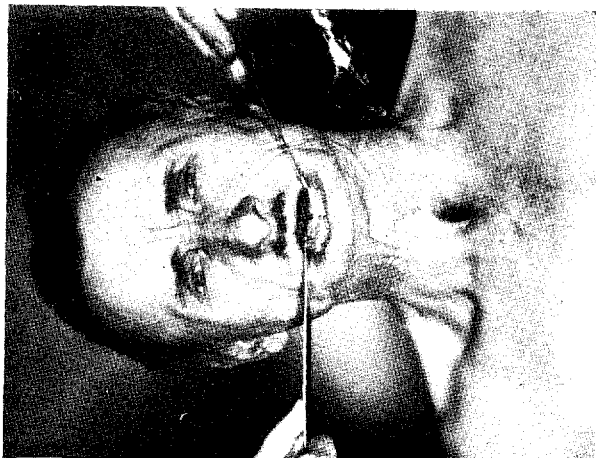




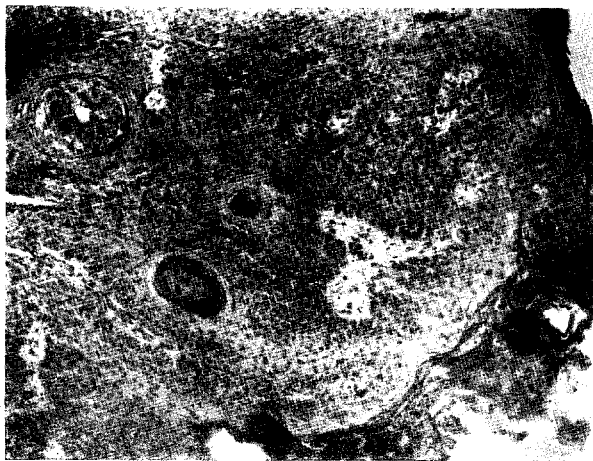
Sl. 16 Histološka slika karcinoma grčljana kod holosnaka sl. 16.



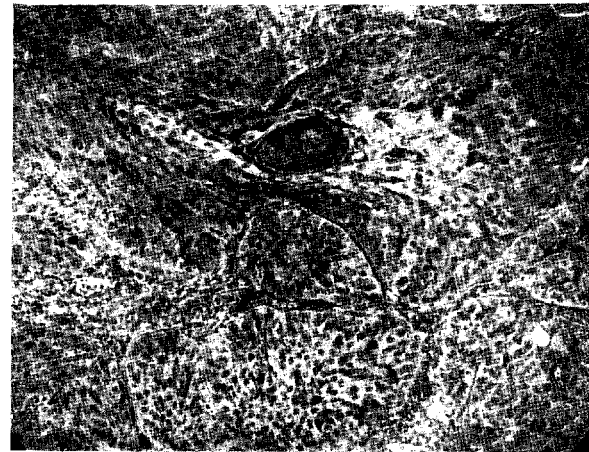
Sl. 17 Histološka slika karcinoma mekog nepca kod holosnaka sl. 17.



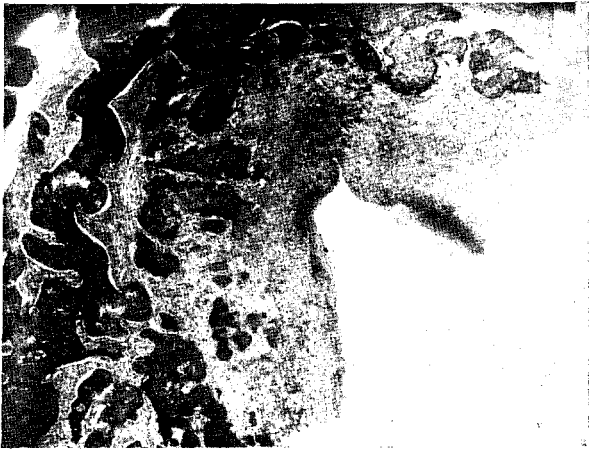
Sl. 12a. Karcinom donje usne kod bolesnika kod kojega je prije 6 godina izvršena haringotomija zbog karcinoma raka.



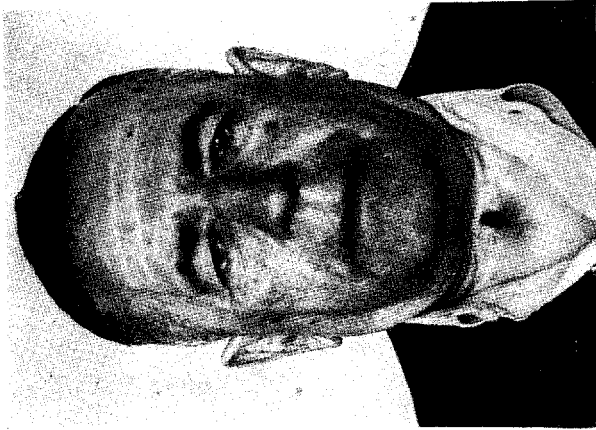
Sl. 12b. Histološka slika karcinoma gkljana kod bolesnika al. 12a.



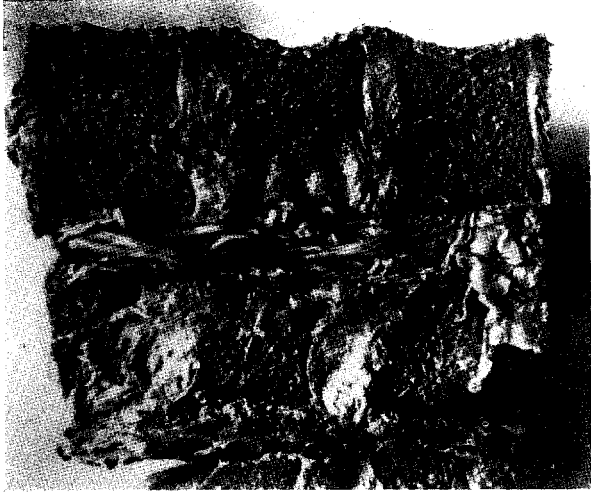
Sl. 12: Histološka slika karcinoma donje nosne kod bolesnika sl. 12a.



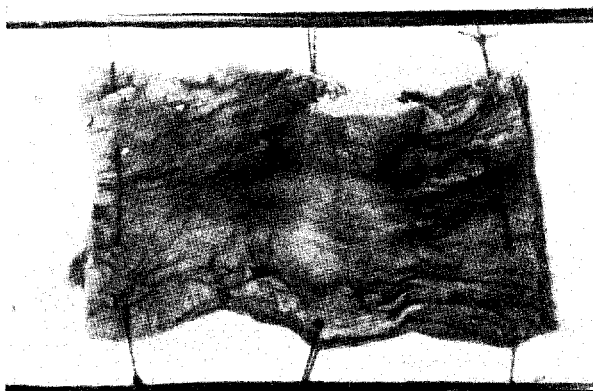
Sl. 13: Prolifracije karcinoma kroz stijenku jugularne vene.



Sl. 11. 19 godina poslije laringektomije zbog karcinoma, smrt  
uslijed metastaza istovrsnog tumora



Sl. 12. na lumbalnoj kralježnici



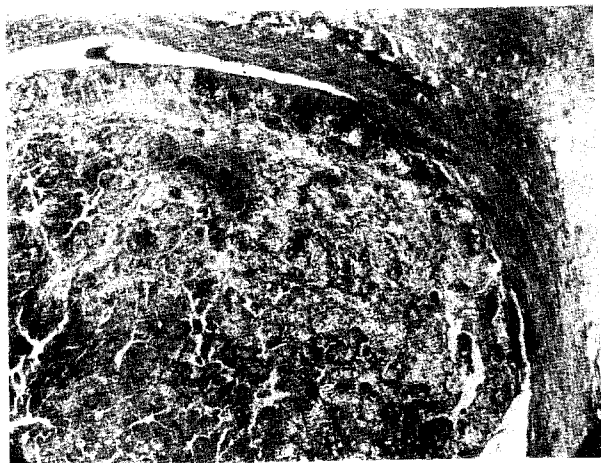
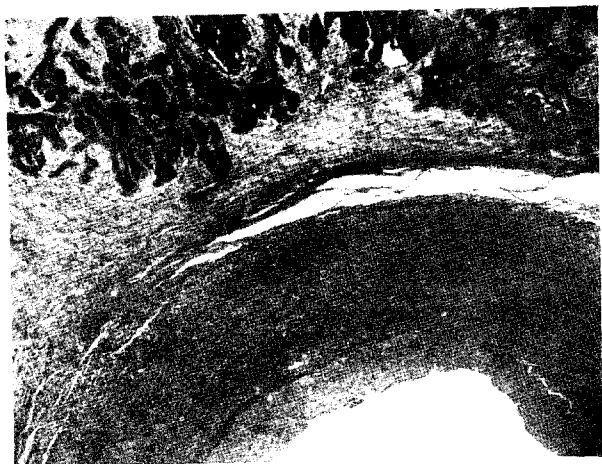
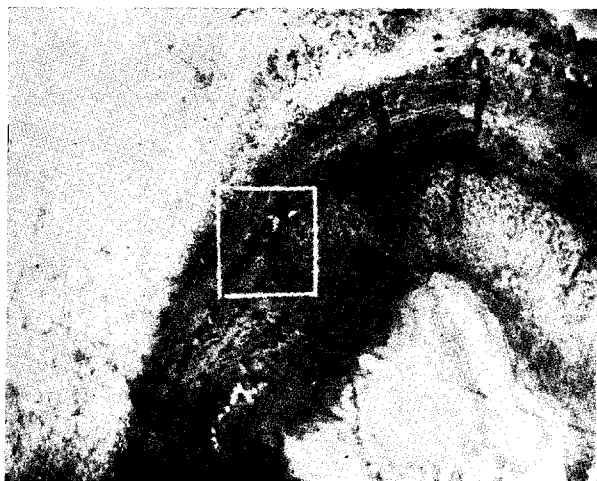
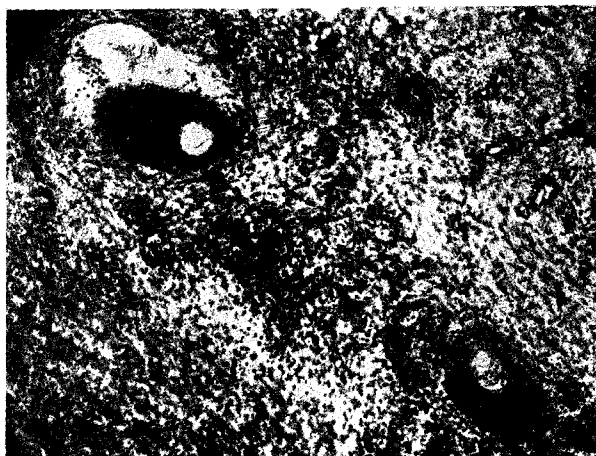
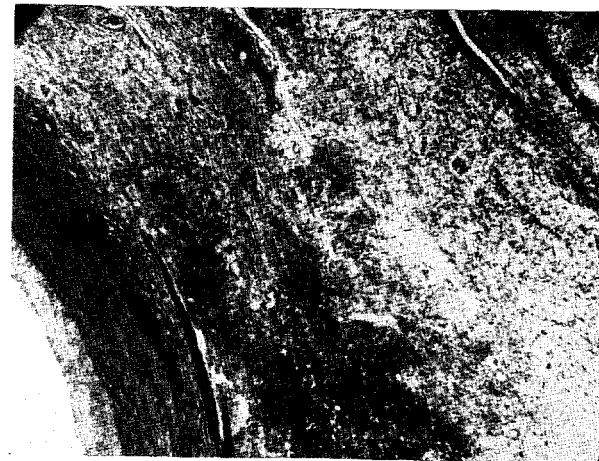
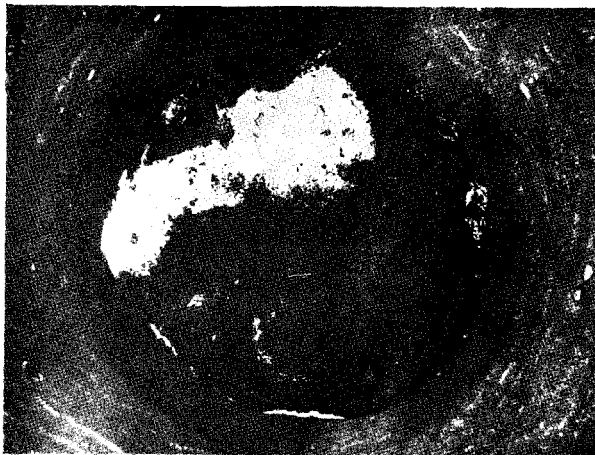


Fig. 1. Cross-section of a root.

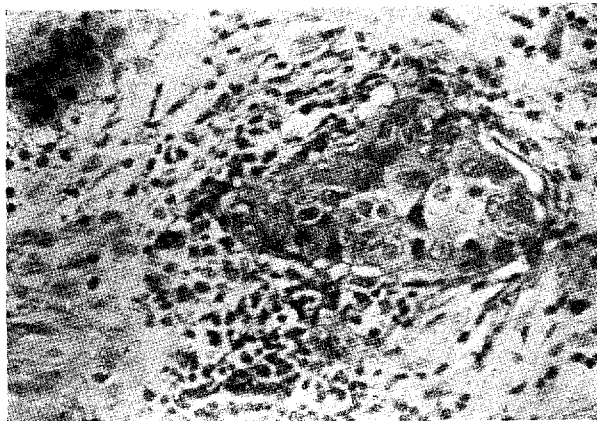




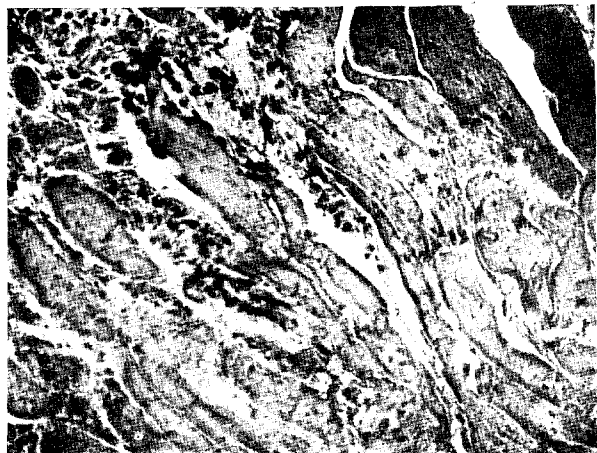
Sl. 16. Upala stijenske karotide - poslije zatevaja.



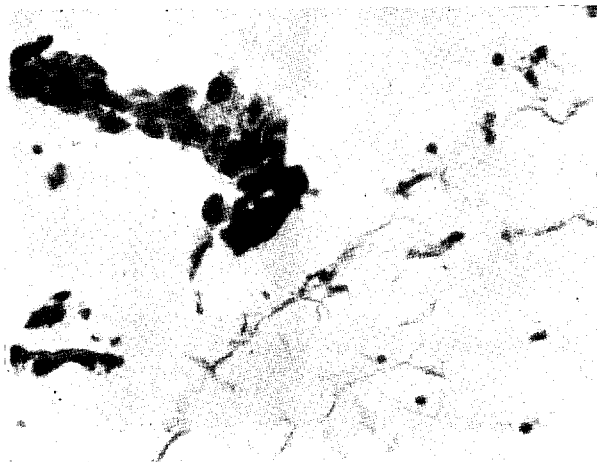
Sl. 19. Tromboza karotide koja je bila aklopljena u imortu.



Sl. 21. Žarište karcinoma u ožljku na vratu.

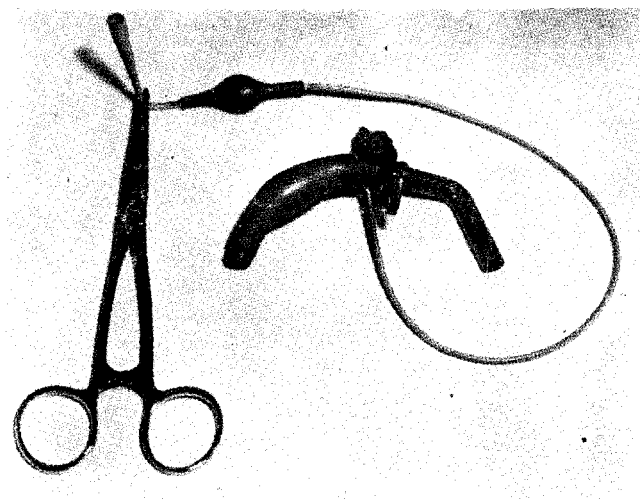


Sl. 20. Široko karcinoma u nodularni vrata.





Sl. 24. Trachealne kaniile s nastavkom za intratrachealnu narkozu po Lakiću.



Sl. 25. Lakićeva kaniila armirana gumevim balonom za onemogućavanje aspiracije sline.



Sl. 26. Stanje poslije obostrane radikalne resekcije na vratu. farinoglotarotonija i resekcije tonila do vitine bifurkacije žnog karotidna.



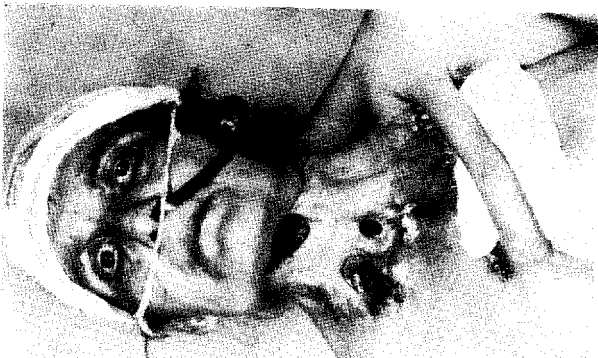
Sl. 27. Stanje poslije obostrane radikalne resekcije na vratu. histrioglotarotonija i resekcije tonila do vitine bifurkacije, ringotomija, trahostomija i, erofagotomija. Otitisak, kuže upo-



Sl. 39. Stupnje pedije obstrane radikalne resekcije na vratu, jedinstvene ligature vane i faringolaringektomije zbog karcinoma. Vidi se: faringostoma, vrafagostoma sa cijevi za prehranu i tracheostoma s trachealnom kaniplom. Kožom vrata prekriven je defekt sluznice u prevertebralnoj regiji. Osa će koža kod vertikalne konstrukcije ždrijela i vratnoga dijela jednjaka činiti stražnju stijenku novostvoreneog faringozofagusa.



Sl. 39. Metastaze iz stajavnoga melanocitoma nakon radikalne resekcije na vratu i faringolaringektomije izvane prije 3 godine zbog karcinoma gljivjane.





Sl. 14. Faringolaringektomija i radikalna resekcija na vratu  
lijevce zbog karcinoma. Prvi akt plastike: torakalni tubulu.



Sl. 15b. Drugi akt plastike kod bolesnika sl. 13a. Tubulus pre-  
hava u abdominalnu regiju.





Sl. 33. Širenje karcinoma u štitnu žlezdavicu.



Sl. 34. Operativni preparat grljana s karcinomom i obostranim metastazama na vratu nakon dnevne tele-Curie terapije započete dok je još tumor bio ograničen unutar larinksa.





Sl. 37. Stanje poslije radikalne resekcije na vratu zbog karcinoma. Vrh se loka (1) stane karotidne pokrivenosti kožom.



Sl. 38. Stanje poslije zatvorne plastike usnos faringolaringohitije i obimne radikalne resekcije na vratu zbog karcinoma. Oborotna resekcija jugularne vene i jedinstvena karotid-  
Vargosa.



Sl. 39. Stanje pacijenta završene plastike nakon faringolaringektomije  
i radikalne resekcije na vratu desno.





## DALJI PRILOG ETIOLOGIJI ZARAZNE VODENE BOLESTI ŠARANA

Pitanje etiologije zarazne vodene bolesti šarana (zvbš) zaokuplja naučne radnike i ribarske stručnjake već nekoliko decenija. Unatoč tome još uvijek ne postoji jedinstveno mišljenje o tom pitanju.

Danas je općenito prihvaćeno mišljenje da je to bolest zarazne naravi, čiji je nastanak i tok u izvjesnoj mjeri ovisan i o nekim faktorima izvan zaraznog agensa. No u pitanju primarnog uzročnika ove bolesti mišljenja se razilaze. Jedni smatraju da je primarni uzročnik bolesti bakterija *Aeromonas* (*Pseudomonas*) *punctata*, a drugi smatraju da je primarni uzročnik virus. Glavni pobornik mišljenja da je *Aeromonas punctata* primarni uzročnik ove bolesti je W. SCHÄPERCLAUS, koji je prvi pred više od tri decenija počeo proučavati ovu bolest. Pitanje uloge *Aeromonas punctata* kod ove bolesti je iscrpno istraživano na našem fakultetu (I. TOMAŠEC i suradnici). Rezultati naših istraživanja pokazali su da se ta bakterija ne može smatrati kao primarni uzročnik zvbš, već da ona tek naknadno ulazi u bolesni organizam. Ne ulazeći ovdje potanje u taj problem, iznijet ćemo samo glavne razloge za takvo naše stajalište.

Općenito je poznato da je bakterija *Aeromonas punctata* raširena u svim vodama, pa je jednako nalazimo u vodama u kojima ova bolest vlada, kao i u onima gdje bolesti nema. Nalazimo je redovito i u crijevu zdravih šarana, a izuzetno je možemo naći i u njegovim organima. Utvrđeno je da nema bitne razlike u patogenitetu prema šaranima između sojeva *Aeromonas punctata* koji su izolirani iz vode u kojoj nema bolesnih šarana i sojeva koji su izolirani iz bolesnih šarana odnosno iz šarana koji su uginuli od zvbš. Šta više, bilo je i slučajeva u kojima je patogenitet sojeva iz vode u kojoj nije bilo bolesnih šarana bio znatno veći od patogeniteta onih sojeva koji su izolirani iz bolesnih šarana. Bolesne promjene se kod šarana mogu proizvesti tek velikim dozama *Aeromonas punctata* apliciranih intraperitonealno, intramuskularno ili supkutano. U vodi se redovito nalazi veći broj tipova *Aeromonas punctata*, koji se

međusobno razlikuju uglavnom po nekim biokemijskim svojstvima. Iz bolesnih šarana jednog te istog ribnjaka izolirali smo u isto vrijeme veći broj tipova te bakterije, a i neke druge bakterijske vrste. Ta činjenica govori protiv mišljenja da je *Aeromonas punctata* specifički i primarni uzročnik bolesti. Patološko-anatomske promjene kod prirodne zvbš i kod umjetne infekcije šarana s *Aeromonas punctata* su samo na prvi pogled slične, a u svojoj biti su različite. Na tu činjenicu neki autori nisu svratili dovoljno pažnje. Kod prirodne zvbš nalazimo u prvom redu hidropičke promjene s hiperemijama, krvarenjima i nekrozama naročito u koži, a kod umjetne infekcije s *Aeromonas punctata* prevladavaju uglavnom gnojno-upalni procesi, i to na mjestu aplikacije bakterijske kulture. Bolest koju smo proizveli kod šarana umjetnom infekcijom s *Aeromonas punctata* (pomoću intramuskularne ili intraperitonealne aplikacije) nije uspjelo kohabitacijom u vodi prenijeti na zdrave šarane, dok je takav način prijenosa bolesti moguć kod prirodne zvbš. Izrazita razlika postoji i u inkubaciji, koja je kod umjetne infekcije s *Aeromonas punctata* mnogo kraća. Nadalje je općenito poznato da zvbš u akutnom i teškom obliku najčešće vlada u proljeće kod temperature vode od 15 do 20°C. Kad temperatura vode prijeđe 20°C, tada bolest obično prestaje, odnosno rjeđe se javlja. Međutim se bakterija *Aeromonas punctata* veoma dobro razmnaža u vodi, pa i u šaranskom organizmu kod više temperature (28–30°C), a kod te temperature vode se zvbš rjeđe javlja, a ukoliko se javi, tada je to obično u blažem obliku. Svakako, razmnažanje te bakterije u već bolesnom šaranskom organizmu nije indiferentno, te imade izvjestan utjecaj na tok i razvoj zvbš.

Mišljenje da bi virus mogao biti uzročnik zvbš zapravo je starijeg datuma. Već je god. 1935. M. A. PJEŠKOV na osnovu provedenih bakterioloških pretraga i infekcijskih pokusa, kao i na osnovu nalaza G. V. EPŠTEJNA da se u stanicama kože i mozga bolesnih šarana nalaze specifični uključci, zaključio da je zvbš bolest virusnog karaktera. God. 1949. je G. D. GONČAROV postigao pozitivni rezultat serološkom metodom za utvrđivanje virusa, a god. 1950. i 1951. su S. ROEGNER-AUST, G. BRUNNER, R. STRIEGEL-JAXTHEIMER i F. SCHLEICH našli u tekućini iz trbušne šupljine kao i u organima bolesnih šarana okrugla elementarna tjelešca velika do 100 milimikrona, za koja drže da je virus. S. ROEGNER-AUST i F. SCHLEICH izvršili su infekcijske pokuse s filtratom organa bolesnih šarana. S tim filtratom, u kojemu nije bilo bakterija, uspjelo im je kod pokusnih šarana izazvati karakteristične simptome bolesti bez čirova s eksudatom u trbušnoj šupljini.

Navedeni pozitivni rezultati u vezi s utvrđivanjem virusnog karaktera zvbš, kao i rezultati istraživanja koja su kod nas provedena o ulozi bakterije *Aeromonas punctata* kod ove bolesti, ponukali su nas da na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu pristupimo sustavnom daljem istraživanju problema njezine etiologije. U toku god. 1953. i 1954. proveli smo istraživanja o virusnom karakteru ove bolesti (I. TOMAŠEC, E. TOPOLNIK

i M. WINTERHALTER, 12\*). Pokušalo se dokazati postojanje virusa nasađivanjem materijala iz bolesnih šarana na kokoške embrione kod temperature od 20°C. Rezultati tih pokusa bili su negativni. U istom radu je izvršeno da je filtratom organa šarana bolesnih od zvbš, kao i njihovom punom krvi bez bakterija, uspjelo bolest prenijeti na zdrave šarane i zlatne karase. Navedeni filtrat uštrcan je u tri pokusa intraperitonealno i intramuskularno dvadeset i dvama šaranima i sedmorica zlatnim karasima. S vanjskim znacima bolesti oboljelo je jedanaest šarana i tri karasa, tj. 48,3% od ukupnog broja inficiranih riba. Od njih je uginulo pet šarana i jedan karas, šest šarana je ubijeno u raznim stadijima bolesti, a dva šarančića su ozdravila. Na temelju tih rezultata mi smo zaključili da zvbš uzrokuje neki filtrabilni mikroorganizam, najvjerojatnije virus.

No ni iza ove naše publikacije nije općenito prihvaćeno mišljenje da bi virus bio primarni uzročnik zvbš, već je problem proučavanja njezine etiologije ostao i dalje aktuelan.

G. D. GONČAROV (4, 5, 6) bavi se i dalje tim pitanjem. U zajednici s E. J. TUREVIČEM utvrdio je uključke u stanicama bolesnih riba jednake onima koje je utvrdio EPŠTEJN. Jednake uključke našli su DINULESCU i suradnici u mozgu bolesnih šarana (cit. po GONČAROVU). Na osnovu dermatotropnosti virusa GONČAROV ga je nazvao *Dermatropus haemorrhagica piscis*. U svojim radovima GONČAROV ističe da je »krasnuha« šarana, koja se javlja u SSSR i koju on smatra virusnom bolešću, identična s bolešću koja se s jednakim znacima javlja i u drugim zemljama (u Njemačkoj: Infektiöse Bauchwassersucht des Karpfens), a za koju SCHÄPERCLAUS smatra da je uzrokuje *Aeromonas punctata*. Ne prihvaća obrazloženje koje SCHÄPERCLAUS navodi u prilog svog stava. Posebno ističe da je virusnom vakcinom uspio imunizirati šarane protiv ove bolesti.

O. BAUER (2) iznosi na Savjetovanju o slatkovodnom ribarstvu u Leipzigu god. 1956. stajalište sovjetskih istraživača da je uzročnik bolesti virus. No prema podacima u literaturi vidi se da ni u SSSR ne vlada o tom problemu još posve jednodušno mišljenje. I. A. ARTJUH i A. G. OSTAŠEVSKIJ (1) nisu uspjeli filtratom organa bolesnih šarana bolest prenijeti na zdrave šarane. Smatraju da je *Aeromonas punctata* primarni uzročnik bolesti. V. I. TEC (10) izvješćuje da nije uspio čirasti oblik zvbš prenijeti na druge zdrave šarane ni u laboratoriju ni u prirodnim ribnjacima.

Negativne rezultate u vezi s utvrđivanjem virusa (biološki pokus s filtratom) postigli su i bugarski istraživači J. KABAIVANSKI, H. SLAVKOV, D. SAVOV i ST. STANOEVIĆ (7). Prema njihovom izvještaju uspjeli su bolest prouzrokovati bakterijom *Aeromonas punctata*. Poljski istraživači M. DYBOWICZ i BR. KOCYLOWSKI (3) uspjeli su tek djelomice pružiti do-

\* U tom radu navedena je i sva literatura koja je ovdje naprijed citirana, pa se u popisu literature neće ponovo navesti.

kaz o virusnom karakteru zvbš. Serološkom metodom dobili su pozitivan rezultat, ali supkutanom aplikacijom filtrata organa bolesnih šarana uspjeli su prouzrokovati samo lokalnu upalu.

Posebno valja istaći da i izvjestan broj istaknutih stručnjaka u svojim knjigama i mnogobrojnim člancima o bolestima riba i nadalje smatra da je *Aeromonas punctata* primarni uzročnik zvbš (W. SCHÄPERCLAUS, W. WUNDER, A. K. ŠČERBINA, H. MANN i dr.).

Takvo stanje nas je ponukalo da i dalje nastavimo proučavanje tog problema. Pitanje tačnog poznavanja uzročnika je bitno za odluku o primjeni mjera za suzbijanje ove bolesti, koja je kod nas još uvijek jedan od najakutnijih problema našeg slatkovodnog ribarstva. Posebno želimo ovom prilikom istaći da stručnjaci koji osporavaju mišljenje da je virus primarni uzročnik bolesti naročito napominju da do sada još nitko nije uspio uzgojiti taj virus u umjetnoj kulturi.

Stoga smo sebi stavili u zadatak da pokušamo uzgojiti virus te bolesti na kulturi tkiva šarana i da time damo dalji prilog mišljenju ga je virus primarni uzročnik zvbš. Time bi ujedno stvorili mogućnost za dalje istraživanje svojstava toga virusa, što je jedan od preduvjeta za uspješno suzbijanje ove bolesti.

Dosada su V. I. TEC i G. S. JAKOVLJEVA (11) pokušali da dokažu virus kod zvbš nasadivanjem zaraznog materijala na umjetnu kulturu tkiva sreca šarana. Oni su uspjeli uzgojiti u umjetnoj kulturi tkivo raznih organa šarana po metodi KEN WOLFA i C. E. DUNBARA. Organi su potjecali od šarana u dobi od 3 do 12 mjeseci. Kultura je inkubirana kod 19°C. Zarazni materijal potjecao je od šarana razne dobi koji su prirodno oboljeli od čirastog oblika zvbš. Trajanje bolesti tih šarana bilo je nepoznato. Šarani su utamanjeni neposredno prije uzimanja materijala. Autori navode da je citopatogeni efekt utvrđen u umjetnoj kulturi tkiva u četiri slučaja. Od ta četiri slučaja tri su potjecala od šarana koji nisu bolovali od zvbš. Prema tome je citopatogeni efekt nastao iz drugih razloga, a ne djelovanjem virusa. Šarani koji su inficirani materijalom iz kulture tkiva nisu reagirali. Pregledom na elektronskom mikroskopu u tim kulturama nisu utvrđena elementarna tjelešca. Na temelju tih rezultata autori zaključuju da kod čirastog oblika zvbš nema virusa.

#### KULTURA TKIVA ŠARANA

Da bi se moglo pristupiti rješavanju navedenog problema, valjalo je u prvome redu riješiti pitanje kulture tkiva šarana i time stvoriti valjani supstrat na kojem će se moći uzgajati virus, ukoliko on postoji u zaraznom materijalu bolesnih šarana. Taj je problem više godina rješavao jedan od nas (Lj. KUNST 8, 9) u nizu pokusa. Mi smo upotrijebili onu metodu kojom je uvijek postignut siguran i dobar rast tkiva.

U našim pokusima je upotrebljavana kultura hubrežnog tkiva šarana, koja je pripremljena po metodi pomoću zgrušane kokošje plazme. Tkivo je uzimano od šarana u dobi oko 9 mjeseci. Za pripremanje kulture uzi-

mani su reznjevi srednjeg bubrega. Nakon usitnjavanja i temeljitog ispiranja u modificiranoj Hanksovoj otopini komadići tkiva su raspoređeni u kokošjoj plazmi, kojom su premazane stijenke epruvete. Dodavanjem pilećeg embrionalnog ekstrakta plazma se zgruša, tako da su komadići tkiva čvrsto fiksirani za stijenku epruvete. U svakoj epruveti dimenzije 11x160 mm nalazilo se 4–6 eksplantata veličine oko 1 mm<sup>2</sup>. Epruvete su pune s 1,5 ml gojilišta, koje se sastojalo od 89,5% modificirane Hanksove otopine, 10,0% šaranskog seruma i 0,5% laktalbuminskog hidrolizata. Gojilište je sadržavalo i antibiotike, i to penicilina 200 I J/ml i streptomiceina 200 mikrograma/ml. pH gojilišta je iznosio 7,2. Hanksova otopina je modificirana dodavanjem 32,3% vode da bi se izbjegla hipertonijska gojilišta. Kulture su inkubirane na 25°C. Svakako bi bilo bolje da smo upotrijebili i kulturu tkiva kože, ali to na žalost nije bilo moguće, jer su te kulture obično bile kontaminirane gljivicama unatoč upotrebi antibiotika.

Proliferacija stanica započela je 48 sati nakon pripremanja kultura. Oko manjih i tanjih eksplantata počele su rasti jedre vretenaste stanice fibroblasta s finim dugim izdancima, koje su se pružale u svim pravcima oko eksplantata. Citoplazma je bila svijetla s jedva zamjetljivom nježnom granulacijom. Jezgra se samo nazirala. Nakon tri do četiri dana znatno se proširila zona novoizraslih fibroblasta. Oko pojedinih eksplantata su počele rasti i male poligonalne stanice s veoma dobro izraženom jezgrom i lagano granuliranom svijetlom citoplazmom. Te su epitelne stanice rasle u kompaktnom sloju, tvoreći na taj način ploče koje su se mjestimično spajale jedna s drugom. Rast fibroblasta je napredovao do 45. dana uz redovitu izmjenu gojilišta, koja je vršena svaka 4 dana. Epitelne stanice su rasle od 3. do 15. dana, nakon čega su ih fibroblasti postepeno prerasli. U kulturama tkiva starim preko 10 dana bilo je moguće i makroskopski vidjeti zonu novoizraslih stanica.

#### PRIPREMA ZARAZNOG MATERIJALA BOLESNIH ŠARANA

Odabiranju zaraznog materijala bolesnih šarana s kojim ćemo vršiti naše pokuse posvetili smo posebnu pažnju. Poznato je naime da neki autori nisu uspjeli bolest prenijeti na druge šarane u slučajevima kada se radilo o čirastom, kroničnom obliku bolesti. Može se pretpostaviti da je u toj fazi bolesti virus već nestao iz organizma šarana, a dalju akciju razaranja da su preuzele bakterije.

Mi smo stoga radili samo s materijalom čija je infekcioznost bila dokazana. Radi toga smo dopremili s uzgajališta riba bolesne šarane i stavili ih u naše pokusne bazene volumena oko 350 litara s protočnom vodom temperature 13–16°C. Njima smo inficirali zdrave šarane. Infekciju smo vršili tako da smo zdravim šaranima lagano oštetili površni dio kože trljanjem suhom vatom. To smo mjesto iza toga natrljali komadom kože bolesnog šarana, na kojemu se nalazila tipična promjena. To je prokušana metoda, kojom smo već u prijašnjim pokusima uspjeli bolest

redovito prenositi na zdrave šarana u laboratorijskim uvjetima. Prvi znaci bolesti javljali su se na mjestu trljanja i u neposrednoj okolini nakon inkubacije od 6-9 dana, a kasnije i na koži ostalih dijelova tijela. Bolest smo s tih, kod naš oboljelih šarana, na isti način prenosili dalje na nove grupe zdravih šarana. Materijal za inokulaciju kultura tkiva uzimali smo od šarana oboljelih u drugoj i trećoj laboratorijskoj pasaži zaraznog agensa.

Materijal smo uzimali od onih oboljelih šarana kod kojih su se u jačem stupnju razvile početne promjene na koži, i to hiperemija, edemi i krvarenja s manjim fokalnim nekrozama epiderme i supepiderme. Promijenjene i okolne zdrave dijelove epiderme i supepiderme odvajali smo skalpelom od lamelnarnog korijuma (Stratum compactum). Pod mjestom gdje su bile razvijene početne promjene izazvane zvbš na lamelnarnom dijelu korijuma nismo nalazili mikroskopski vidljive patološke promjene. Odvojenu epidermu sa supepidermom na kojoj su bili patološki procesi usitnili smo škarama, zdrobili u tarioniku i razvrijedili s 5 dijelova gojišta za uzgoj kulture tkiva. Dobivenu masu smo centrifugirali 20 minuta na 2000 okretaja. Zatim smo odvajali supernatant i filtrirali ga kroz Seitzov EK filter. S dobivenim filtratom vršili smo inokulaciju kulture tkiva. Tu inokulaciju vršili smo pri prvoj i drugoj izmjeni gojišta. Nakon odlijevanja starog gojišta u svaku epruvetu je dodano 0.2 ml filtrata kože bolesnih šarana. Okretanjem epruveta omogućeno je da filtrat dođe u doticaj sa svim eksplantatima, a zatim je u svaku epruvetu dodano 1,5 ml novoga gojišta. Nakon inokulacije gojište više nije mijenjano.

#### VLASTITI POKUSI

*Pokus I.* Materijal za inokulaciju kultura tkiva uzet je od 2 šarana s opsežnim početnim znacima zvbš, koji su oboljeli u drugoj pasaži prijenosa bolesti. Kod jednog šarana nalazila se na korijenu repne peraje okrugla površinska nekroza kože u promjeru od oko 5 mm, okružena hiperemijom i tačkastim krvarenjima. Kod drugog šarana se takva promjena nalazila u području lijeve prsne peraje. Netom utamanjenim šaranima izrezana su, naprijed opisanom tehnikom, promijenjena mjesta zajedno s okolnim zdravim tkivom.

Za nasadivanje zaraznog materijala upotrijebljene su 8 dana stare kulture hubrežnog tkiva šarana. Kulture su podijeljene u tri skupine po 6 epruveta. Prva skupina inokulirana je s 0.2 ml filtrata tkiva oboljelih šarana, a ostale dvije skupine služile su kao kontrola. Kulture druge skupine inokulirane su s 0.2 ml filtrata kože zdravih šarana, koja je obrađena na jednaki način kao i koža bolesnih šarana. Tu smo skupinu nasadili da utvrdimo ne djeluje li eventualno ekstrakt kože zdravih šarana na neki način štetno na kulturu tkiva. U kulture treće skupine nije stavljeno ništa da bi se moglo tačno razlikovati obično propadanje stanica u starijoj kulturi od eventualnog citopatogenog efekta u kulturama prve skupine.

Na stanicama kultura prve skupine (zarazni materijal) javile su se prve promjene tri dana nakon inokulacije, a očitovale su se u pojavi grube tamne granulacije u citoplazmi epitelnih stanica. Unutar do tada kompaktnih ploča epitelnih stanica pojavile su se pukotine na čijim rubovima su pojedine stanice tamne i smežurane. Na fibroblastima se također mjestimično opaža gruba granulacija. Nakon četiri dana su se epitelne stanice u svim kulturama prve skupine raspale u zrnastu masu. Fibroblasti su se smežurali i izgubili svoju prozirnost. Mjestimično je došlo do skupljanja fibroblasta u grozdaste nakupine, u kojima se više nisu mogle razlikovati pojedine stanice ili njihovi dijelovi. Petog dana je opisanim promjenama bilo zahvaćeno oko dvije trećine fibroblasta, a sve su epitelne stanice bile potpuno propale. Nakon sedmog dana su se sve stanice u kulturama prve skupine raspale u bezobličnu zrnastu masu. U kontrolnim kulturama druge i treće skupine su se prve degenerativne promjene na stanicama pojavile tek nakon deset dana. Te su se promjene očitovale u gubitku jedrine i prozirnosti.

U toku inkubacije pojavila se i izrazita razlika u boji gojišta pojedinih skupina. Boja gojišta prve skupine ostala je crvena, dok je boja gojišta druge i treće skupine postepeno prelazila iz crvene u žutonarandžastu, a sedam dana od početka pokusa bila je već potpuno žuta.

Da bismo dokazali postojanje patogenog virusa u kulturi tkiva, mi smo njome inficirali određeni broj pokusnih riba. Za te biološke pokuse upotrijebili smo šarane težine 30–100 g. Riba su držane u betonskim bazenima volumena oko 350 l bez protoka vode. Prije pokusa sve su ribe bile pod kontrolom oko 4 mjeseca. U tom razdoblju na njima nisu primijećene nikakve bolesne promjene. Riba u pokusu pregledavane su svaki drugi dan.

S materijalom iz epruveta prve skupine inficirano je 9 šarana, i to 5 intraperitonealno s 0,2 ml gojišta inficiranih kultura i 4 trljanjem tkivom iz istih epruveta iz kojih je uzeto gojište. Da bi se provjerilo djelovanje neinficirane kulture na šarane, izvršen je i kontrolni pokus, u kojemu je isti broj šarana tretiran na jednaki način s neinficiranom kulturom tkiva. Temperatura vode je za vrijeme pokusa iznosila oko 13,5°C.

Nakon 6 dana pojavila se kod 2 šarana koji su inficirani trljanjem kože lagana hiperemija na mjestu trljanja i na ljuskama u području ramenog pojasa. Te su se promjene u toku slijedećih nekoliko dana izgubile. Osamnaest dana nakon infekcije je kod jednog šarana koji je inficiran intraperitonealnom aplikacijom gojišta došlo do edema kože i hiperemije ljusaka u području lijeve prsne peraje. U toku slijedeća dva dana te su se promjene izgubile. Na ostalim inficiranim ribama nisu u toku 35 dana, koliko je trajao pokus, utvrđene nikakve promjene. Šarani tretirani radi kontrole s neinficiranom kulturom nisu reagirali u istom vremenskom razdoblju.

Da bismo pružili dalji dokaz da su promjene na kulturi tkiva nastale zaista djelovanjem virusa, mi smo materijalom iz epruveta prve skupine inokulirali novu kulturu tkiva. Za prvu pasažu virusa na kulturi tkiva

upotrijebljeno je gojište iz kulture tkiva prve skupine, koje je bilo pohranjeno na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Gojište je otopljeno i inokulirano u količini od 0,2 ml novim kulturama tkiva odmah pri njihovom pripremanju. Kao kontrola je poslužila kultura tkiva koja je pripremljena u isto vrijeme. U inficiranim kulturama prvih 5 dana nije došlo do proliferacije stanica, dok su kontrolne kulture normalno rasle. Petoga dana nakon inokulacije je oko jednog manjeg eksplantata u jednoj inficiranoj kulturi došlo do proliferacije takvih fibroblasta, koji su bili jedri i svijetli, te se ni po čemu nisu razlikovali od onih u kontrolnim kulturama. Epitelne stanice u inficiranim kulturama nisu rasle. Nakon 7 dana pojavile su se degenerativne promjene na stanicama i u kulturama kontrolne skupine, jer gojište nije mijenjano, pa je pokus prekinut. Boja gojišta je u inficiranim kulturama ostala crvena, dok je ona u kontrolnim kulturama u kojima je došlo do proliferacije tkiva prešla u žutu.

Sedmog dana nakon inokulacije kultura s materijalom inficiranih kultura inficirano je 8 šarana. Svakom šaranu aplicirano je 0,1 ml gojišta pod veće ljuske i 0,4 ml gojišta intraperitonealno. Pored toga je svaki šaran natrijan i tkivom iz istog gojišta. Od sedmog do desetog dana nakon aplikacije pojavile su se na mjestu trljanja jedva vidljive hiperemije, koje su u toku daljih nekoliko dana nestale. Poslije tog vremena na šaranima nismo primijetili nikakve promjene.

*Pokus II.* Da bismo provjerili da se kod promjena u kulturi tkiva u prvoj skupini prvog pokusa nije radilo o slučajnosti, mi smo takav pokus ponovili. Materijal za inokulaciju kultura uzet je od šarana s jako raširenim početnim znacima zvbš iz treće laboratorijske pasaže. U času uzimanja materijala proteklo je 18 dana od infekcije.

Nakon filtriranja zaraznog materijala jedan dio je upotrijebljen za infekciju kultura, a drugi dio za infekciju šarana radi kontrole infekci-oznosti materijala. Šarani su inficirani na jednaki način kao i šarani prethodnog pokusa. Kod šarana koji su bili inficirani filtratom izvornog materijala pojavila se nakon 28 dana slaba hiperemija, koja je trajala oko 10 dana. Četrdeset pet dana nakon infekcije pokus je prekinut jer su svi šarani bili zdravi. Temperatura vode za vrijeme trajanja pokusa iznosila je oko  $13,5^{\circ}\text{C}$ .

Zarazni materijal nasaden je na kulture tkiva stare 8 dana. Kao kontrola upotrijebljena je kultura tkiva iste starosti. U toku 5 dana inokulacije nisu na stanicama utvrđene nikakve promjene. Nakon 8 dana u svim epruvetama utvrđeni su znakovi degeneracije, koja se očitovala u smežuranim stanicama i pojavi grube tamne granulacije u citoplazmi. Gojište je u svim epruvetama imalo žutu boju. Među kontrolnim i inficiranim epruvetama nije bilo nikakvih razlika.

*Pokus III.* Kako s nasadenim materijalom u II pokusu nismo u kulturi tkiva dobili pozitivni rezultat, odlučili smo takav pokus pod jednakim uvjetima provesti još dva puta, odabirući kod svakog drugi izvorni materijal bolesnih šarana.

Materijal za inokulaciju kultura u ovom pokusu uzet je od šarana oboljelog u trećoj pasaži prijenosa bolesti. Iznad desne trbušne peraje nalazio se mjehur veličine trešnje, ljubičasto crvene boje (slika 1). Oko mjehura bila je koža lagano edematozna i hiperemična. Sadržaj mjehura sastojao se od bistrice crvenoljubičaste tekućine, koja se nalazila između epitela i korijuna. Te su promjene nastale 18 dana iza infekcije. Puntatom sadržaja mjehura inficirane su 4 epruvete kulture tkiva koja je bila stara 8 dana.

Kako punktati nije bio obrađen s antibioticima, to su se 3 od inokuliranih kultura zagađile. U četvrtoj epruveti su se nakon 3 dana pojavile opsežne promjene na stanicama. Epitel je bio potpuno razoren, a fibroblasti su bili tamni i smežurani. Četvrtog dana se sve novoizraslo tkivo raspalo u grozdastu masu. U kontrolnim epruvetama nije bilo promjena na stanicama. Epruveta s inficiranom kulturom pohranjena je na  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Nakon 30 dana je materijal iz pohranjene epruvete otopljen i inokuliran 8 dana starim kulturama. Inokulirano je 5 epruveta. Već nakon 48 sati su se u 2 epruvete počele smežuravati pojedine nakupine fibroblasti. Stanice su postale tamne i zrnate. Idućeg dana su tim promjenama već bili zahvaćeni fibroblasti u svim inokuliranim kulturama. Rast epitelnih stanica, kako u inokuliranim epruvetama, tako i u kontrolnim, bio je veoma oskudan, pa na njih nije obraćana posebna pažnja. Nakon 5 dana je većina fibroblasti bila pretvorena u bezobličnu zrnatu masu. Tri epruvete s inficiranim kulturama su dalje pohranjene na  $-20^{\circ}\text{C}$ , dok su ostale epruvete upotrijebljene za biološki pokus na ribama. Na fibroblastima u kontrolnim kulturama nisu za vrijeme trajanja pokusa utvrđene nikakve promjene.

S materijalom iz prve pasaže na kulturi tkiva inficirano je 8 šarana. Infekcija je izvršena parenteralnom aplikacijom gojilišta, i to 0,4 ml intraperitonealno i 0,1 ml pod veće ljuske. Svaki šaran je osim toga trljan na jednom mjestu kože tkivom inficiranih kultura. Temperatura vode iznosila je  $13-14^{\circ}\text{C}$ . Nakon 14 dana je kod 4 šarana došlo do lagane hiperemije oko mjesta trljanja, koja se u toku slijedećih 8 dana izgubila. Mjesec dana nakon infekcije svi su šarani bili bez promjene, pa je pokus prekinut.

*Pokus IV.* Kao materijal za inokulaciju kultura upotrijebljeno je tkivo kože šarana oboljelih u trećoj pasaži prijenosa bolesti. Filtrat promjena s kože oboljelih šarana je inokuliran u 5 epruveta s 8 dana starim kulturama tkiva. Kao i u prethodnom pokusu, tako se i ovdje nakon 48 sati u citoplazmi fibroblasti pojavila tamna granulacija, koja je bila naročito izražena na stanicama koje su se nalazile na rubovima zone rasta. Fibroblasti uz sam eksplantat su bili jedri i prozirni. U pločama epitelnih stanica su se pojavile pukotine, na čijim rubovima su stanice bile tamne i smežurane. Nakon 3 dana epitelnice postale su granulirane, izgubile su međusobnu povezanost, a promjene na fibroblastima su se proširile i na stanice uz sam eksplantat. Na stanicama u kontrol-

nim kulturama u isto vrijeme nije bilo nikakvih promjena. Nakon 3 dana pokus je prekinut. Inficirane kulture su dijelom upotrijebljene za biološki pokus, a ostatak je pohranjen na  $-20^{\circ}\text{C}$ .

U biološkom pokusu inficirano je 8 šarana, i to intraperitonealno s 0,5 ml gojišta i trljanjem po koži tkivom inficiranih kultura. Nakon 10 dana se kod jednog šarana ispod jedne ljuske pojavilo krvarenje, a oko mjesta trljanja hiperemija i lagani edem. Te su promjene nakon 3 dana nestale. Kod 2 šarana se na mjestu trljanja 17 dana nakon infekcije pojavila jedva uočljiva hiperemija, koja je brzo nestala.

*Pokus V.* Iz dosadašnjih pokusa vidimo da su šarani inficirani infektivnim materijalom iz kulture tkiva veoma slabo reagirali. Smatrali smo da jedan od razloga za to moguće leži u tome što su temperature kulture tkiva i temperature vode u kojoj su boravili šarani bile različite. Prva je iznosila  $25^{\circ}\text{C}$ , a druga oko  $13-14^{\circ}\text{C}$ . Stoga smo u ovom pokusu, kao i idućim pokusima, temperature tih dviju sredina izjednačili, i ona je iznosila oko  $18^{\circ}\text{C}$ .

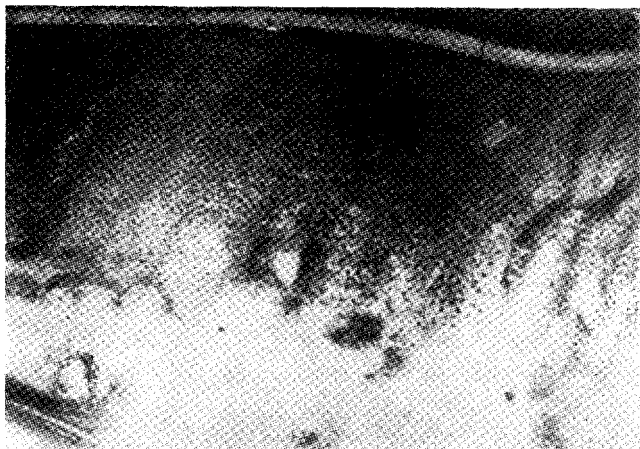
Za inokulaciju kultura u tom pokusu upotrijebljeno je tkivo šarana oboljelih u trećoj pasaži bolesti. Šarani su bili zahvaćeni početnim znacima zvbš. Na koži su se nalazila manja i veća nekrotična područja okružena krvarenjima, hiperemijom i laganim edemom. Nekroze nisu zahvatile muskulaturu (sl. 2).

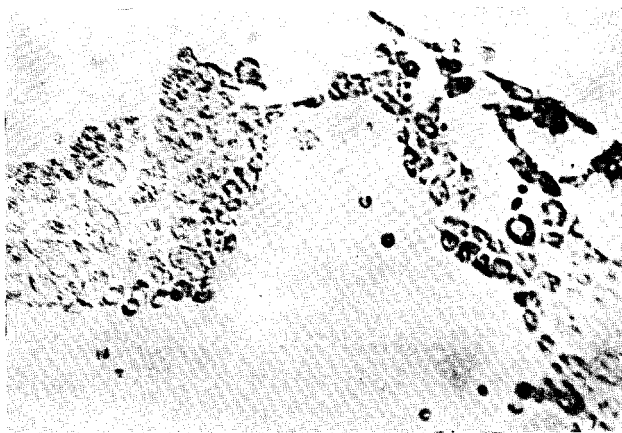
Filtrat tkiva oboljelih šarana inokuliran je u 5 epruveta kulture tkiva stare 8 dana. Trećeg dana iza inokulacije pojavile su se na pločama epitelnih stanica pukotine, na čijim rubovima su stanice bile tamne i smežurane (sl. 3). Ploče epitelnih stanica u kontrolnim kulturama ostale su nepromijenjene (sl. 4). Degenerativne promjene na fibroblastima su opažene istoga dana, a očitovale su se u gubitku povezanosti između pojedinih snopova stanica i u njihovu smežuranju (sl. 5). Na fibroblastima kontrolne kulture nije bilo takvih promjena (sl. 6). Četvrtog dana, kada je promjenom bilo zahvaćeno oko  $2/3$  stanica, pokus je prekinut. Dio kultura je upotrijebljen za biološki pokus na ribama, a ostatak je pohranjen za dalje pasaže na kulturama tkiva.

U biološkom pokusu inficirano je 5 šarana i 5 zlatnih karasa na jednak način kao i u prethodnim pokusima. Prve promjene pojavile su se na karasima već 6. dana nakon infekcije. Na mjestu trljanja i na mjestu intraperitonealne aplikacije pojavile su se na koži kod svih 5 karasa sitna tačkasta krvarenja i lagani edem. Navedene promjene su 7. dana izražene nešto jače, a zatim su počele jenjavati, tako da su 16. dana sve ribe bile bez promjena. Nakon 22 dana su se kod 2 karasa pojavili edem i hiperemija ispod mjesta trljanja, dok je kod jednog šarana utvrđeno opsežno krvarenje u području prsne peraje. Trideset dana nakon infekcije su kod karasa navedene promjene nestale, a 3 šarana bila su zahvaćena početnim znacima zvbš. Kod šarana koji je prije prethodnog pregleda imao krvarenja na području prsne peraje došlo je na tom mjestu do razvoja čira. Od peraje su ostale samo žbice. Kod drugog šarana utvrđen je početak čira na repnom stablu i jača krvarenja na korijenu repne peraje. Treći šaran je imao opsežna krvarenja na donjoj usni

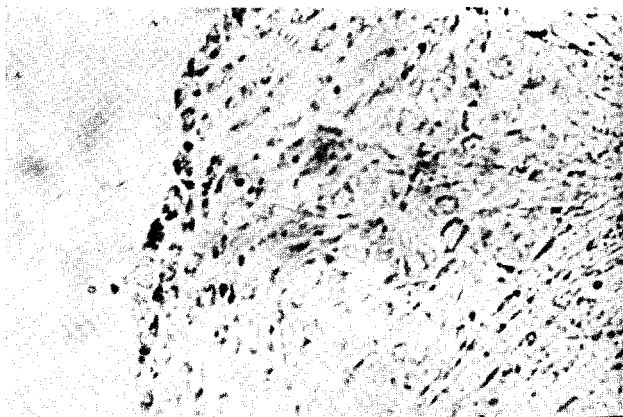


Sl. 1. Mjehur kože bolesnog šarana od zvbš ispunjen bistrom crvenoljubičastom tekućinom.  
Pokusni materijal u III pokusu.

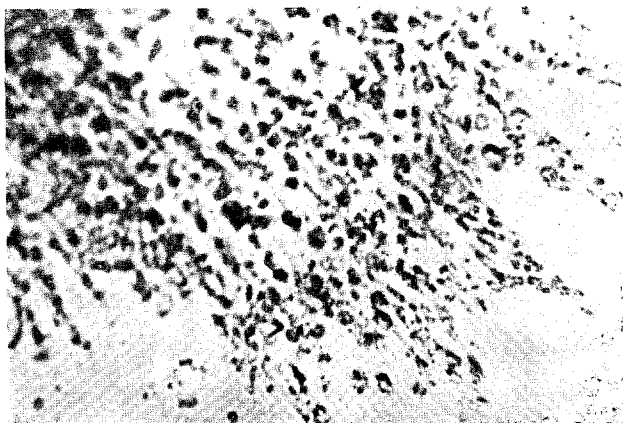




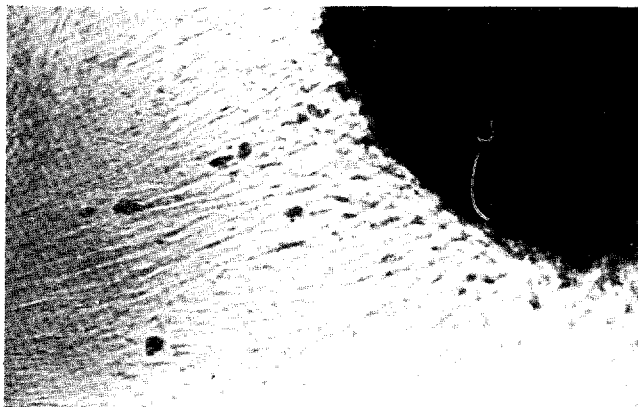
Sl. 3. Citopatogeni efekt na epitelnim stanicama bubrežnog tkiva šarana 8 dana iza inokulacije filtriranog materijala bolesnih šarana.



Sl. 4. Ploča nepromijenjenih epitelnih stanica u 11 dana staroj kulturi bubrežnog tkiva šarana.



Sl. 5. Citopatogeni efekti na fibroblastima bubrežnog tkiva 3 dana iza inokulacije filtriranog materijala bolesnog bubrega.





i na branhioestegmalnoj membrani. Nakon 40 dana su promjene kod 3 oboljela šarana napredovale, dok se kod četvrtog pojavila difuzna hiperemija kože trbuha, ispućenje zacrvenjelog anusa i opsežna krvarenja oko trbušnih peraja s edemom ljsaka na tom području. Kod 2 karasa utvrđena su manja krvarenja oko mjesta trljanja. Slijedećih dana su se promjene kod karasa potpuno izgubile, a one kod šarana su napredovale. Tako su 2 mjeseca nakon infekcije svi šarani bili u jačem stupnju zahvaćeni zvbš, dok su svi zlatni karasi bili bez promjena.

Dva i po mjeseca nakon infekcije uginuo je prvi šaran s jasno izraženim promjenama na koži. U trbušnoj šupljini se nalazilo oko 5 ml bistre žućkaste serozne tekućine. Utvrđena je serozna prokvašenost jetre i bubrega, uz opću anemiju. Nakon toga je biološki pokus prekinut.

Materijal od jednog bolesnog šarana poslužio je za dalju infekciju riba, a od ostalih je materijal uzet za infekciju kultura tkiva u idućem pokusu. Infekcija tim materijalom je provedena da se utvrdi infektivnost bolesti koja se razvila nakon inokulacije s promijenjenim kulturama tkiva. Inficirano je 5 zdravih šarana i 5 zlatnih karasa na taj način da smo oštećenu kožu riba trljali s promijenjenim mjestima na koži oboljelih šarana. Sedam dana nakon infekcije su se kod inficiranih šarana pojavila opsežna krvarenja s edemom na mjestu trljanja. Nakon 13 dana je jedan od pokusnih šarana uginuo. Na koži trbuha nalazila su se krvarenja s laganim edemom, a anus je bio zacrvenjen i ispružen. Isticao se ohostrani egzoftalmus. U trbušnoj šupljini nadena je žućkastocrvenkasta tekućina. Nutarnji organi bili su serozno prokvašeni, a svi organi su bili anemični. Slijedećeg dana uginuo je jedan karas sa znacima jake hiperemije i edema kože na trbuhu. Na mjestu trljanja nadena su jaka krvarenja. U trbušnoj šupljini bilo je nešto bistre žućkaste tekućine. Pokus je nakon toga prekinut, jer su preostala dva šarana pokazivala karakteristične znakove zvbš.

*Pokus VI.* U ovom pokusu je serija kultura bubrežnog tkiva šarana podijeljena na 4 skupine. U svakoj skupini nalazilo se 5 epruveta s 8 dana starom kulturom tkiva. Prvoj skupini kultura inokuliran je materijal iz inficiranih i promijenjenih kultura prethodnog pokusa, koje su bile pobranjene na  $-20^{\circ}\text{C}$ . Drugoj skupini inokuliran je materijal od šarana oboljelih u V pokusu nakon infekcije s kulturom tkiva koja je bila promijenjena. Trećoj skupini kultura inokuliran je materijal od šarana na koje smo bolest prenijeli sa šarana koji su u V pokusu oboljeli nakon infekcije s kulturom tkiva. Četvrta skupina kultura nije ničim inokulirana i služila je kao kontrola.

Nakon trećeg dana bila je slika u svim inficiranim skupinama kultura (skupina 1, 2 i 3) približno jednaka. Fibroblasti i epitelne stanice bile su zahvaćene degenerativnim promjenama koje su već opisane kod prijašnjih pokusa. Na stanicama u kontrolnim kulturama četvrte skupine nije bilo promjena.

Pet dana nakon inokulacije uzet je materijal za infekciju riba iz druge i treće skupine kultura. Inficirano je po 5 šarana i 2 zlatna karasa. Svaka skupina riba držana je u posebnom bazenu. Kod šarana koji su

inficirani materijalom iz druge skupine kultura pojavila su se 7 dana nakon infekcije kod 3 šarana veoma sitna tačkasta krvarenja na mjestu trljanja. Kod jednog zlatnog karasa pojavio se na mjestu intraperitonealne aplikacije lagani edem kože i krvarenja ispod ljusaka. Devetog dana na šaranima više nije bilo nikakvih promjena, dok su kod zlatnih karasa ostale iste. Šesnaestog dana pojavio se kod 2 šarana na mjestu trljanja ponovo laki edem i malena tačkasta krvarenja. Dvadeset i prvog dana nakon infekcije na šaranima nije bilo promjene. Takvo stanje je ostalo i dalje, pa je pokus prekinut nakon 30 dana.

U skupini inficiranih šarana s materijalom iz treće skupine kultura također su se sedmog dana javili laki znaci bolesti. Kod 4 šarana je zapažena laka hiperemija na mjestu trljanja, a kod jednog zlatnog karasa je na mjestu intraperitonealne aplikacije bilo vidljivo krvarenje na koži. Devetog dana su promjene na svim ribama nestale. Šesnaesti dan utvrđeno je kod jednog šarana tačkasto krvarenje na mjestu trljanja, a kod jednog karasa hiperemija kože na mjestu intraperitonealne aplikacije. Dvadeset i prvog dana nismo na ribama našli više nikakvih promjena, pa je 30. dan pokus prekinut.

#### RASPRAVA O REZULTATIMA POKUSA

U toku naših pokusa mi smo u 7 navrata stavili u kulture bubrežnog tkiva šarana zarazni materijal šarana raznih slučajeva zvbš. U 6 slučajeva javile su se već nakon 2-3 dana u fibroblastima i epitelnim stanicama degenerativne promjene, koje su se u toku idućih dana pojačale. Samo u jednom slučaju tkivo je u prvim danima ostalo nepromijenjeno, a u toku daljih dana promjene na njemu bile su jednake promjenama u kontrolnim kulturama. Navedene promjene na bubrežnom tkivu možemo smatrati kao tipičan citopatogeni efekt, koji je uzrokovan djelovanjem agensa koji je u gojište unesen s materijalom bolesnih šarana.

U slučajevima kada smo kulturi bubrežnog tkiva dodali istovrsni materijal zdravih šarana izostao je citopatogeni efekt.

U skladu s reakcijama na tkivnim stanicama mijenjala se i boja tekućeg medija u kulturi tkiva, pa nam je ta promjena boje poslužila kao tzv. »colour test«. U kulturama gdje se pojavio citopatogeni efekt boja gojišta ostala je nepromijenjena, tj. crvena, dok je crvena boja gojišta kontrolnih kultura prelazila najprije u žutonarandžastu, a kasnije u žutu. U gojištu se nalazi fenolno crvenilo kao indikator. Rastom stanica povećava se intenzitet promjene tvari, uglavnom se radi o glikolizi, kod čega se stvaraju kiseli produkti, koji pomjeraju pH gojišta prema kiselom području, pa crvena boja prelazi u žutu. Održavanje crvene boje u inficiranim kulturama ukazuje na smanjenu aktivnost stanica na kojima su se javile degenerativne promjene.

Na temelju citoloških promjena i pozitivnog »colour testa« u promijenjenim kulturama možemo zaključiti da je filtratom materijala od bolesnih šarana unesen u gojište agens koji je štetno djelovao na bubrežno tkivo. U konkretnom slučaju moglo bi se raditi o virusu ili o toksinu.

Da bismo isključili postojanje toksina, mi smo u više pokusa izvršili dalju pasažu materijala iz kultura s promjenama u nove kulture. U novim kulturama javio se uvijek u jednakom vremenskom razmaku jasan citopatogeni efekt. Na osnovu toga možemo zaključiti da se u ovom slučaju nije radilo o djelovanju toksina, već da se radilo o živom agensu koji se u gojištu razmnožio i štetno djelovao na stanice tkiva, tj. o virusu.

Da bismo utvrdili da se ovdje zaista radi o virusu zvbš, mi smo s materijalom iz kultura na kojima se pojavio citopatogeni efekt inficirali šarane i zlatne karase.

Kod jednog dijela inficiranih riba pojavili su se prvi znaci bolesti 1–2 sedmice iza aplikacije materijala. Ta inkubacija bila bi približno jednaka inkubaciji kao u slučajevima kada smo bolest prenosili izravno trljanjem zdravih šarana s promjenama bolesnih šarana. Od ukupno 40 inficiranih šarana pozitivno je reagiralo 27, tj. 67,5%, a od 9 inficiranih karasa pozitivno je reagiralo 7, tj. 77,7%. No posebno valja istaći da su se samo u jednom pokusu kod 5 šarana i kod 5 karasa razvile izrazite tipične i teške promjene kao u slučajevima kad smo bolest prenosili izravno sa šarana. U ostalim pozitivnim slučajevima promjene su bile veoma slabe i sastojale su se u laganoj hiperemiji, edemu i tačkastim krvarenjima na koži većinom na mjestu aplikacije, odnosno oko njega. Te su promjene u većini slučajeva nestale u toku nekoliko dana. Takve promjene nismo dobili na šaranima koje smo radi kontrole trljali materijalom u kojem su se nalazile samo bakterije, odnosno kod šarana koje smo običnim trljanjem po koži lagano oštetili. Prema tome mi zaključujemo da su opisane promjene, koje su nastale iza određene inkubacije, izazvane virusom.

Činjenica da su te promjene u većini slučajeva bile veoma slabe ne govori sama za sebe protiv takvog shvaćanja. Poznato je da nastanak i razvoj promjena u takvim slučajevima ovisi i o količini unešenog virusa. Na to nas uvučuju i rezultati koje smo postigli u jednom drugom pokusu pri infekciji šarana raznim slojevima centrifugata zaraznog materijala. Možda je i pasaža virusa kroz kulturu tkiva imala nekog utjecaja na njegov patogenitet. Poznato je da je kod nekih virusa potrebno neko vrijeme adaptacije pri pokušaju uzgajanja na kulturi tkiva. Ta se adaptacija postiže serijskim pasažama na kulturi tkiva, a često puta je potrebno vršiti i izmjenične pasaže. Sigurno je da je niska temperatura vode od 13–14°C, kod koje smo u većini slučajeva provodili naše biološke pokuse imala i određeni nepovoljni utjecaj na razvoj bolesti. No to ne možemo smatrati za glavni razlog, jer mi smo kod prirodnog prenošenja bolesti i kod te temperature vode postigli bolje rezultate. Ovdje ostavljamo otvoreno pitanje da li na jakost promjena, odnosno na razvoj bolesti, ima pored virusa neki utjecaj i bakterija *Aeromonas punctata*, odnosno neke druge vodene bakterije koje susrećemo kod ove bolesti.

## ZAKLJUČAK

Nasadivanjem filtriranog materijala bolesnih šarana od zarazne vodene bolesti na kulturu bubrežnog tkiva šarana uspjelo je na njemu proizvesti tipičan citopatogeni efekt. Te promjene na tkivu rezultat su djelovanja virusa koji se nalazi u materijalu bolesnih šarana. Materijalom promijenjenih kultura izazvali smo kod većine pokusnih riba lake znakove zarazne vodene bolesti, pa iz toga zaključujemo da je ova bolest primarno uzrokovana virusom.

## LITERATURA

1. *Artjuh I. A., A. G. Ostaševskij*, O roli *Pseudomonas punctatum* v etiologiji zaholevanija karpov krasnuhoj, Sb. tr. Harkovsk. vet. inst. (23), 185-190, 1958.
2. *Bauer O.*, Die Erforschung der Fischkrankheiten in den Sowjetischwirtschaften und ihre Bekämpfung, Zeitschr. f. Fischerei 7 (1/2), 153-160, 1958.
3. *Dybowicz M., Br. Kocylowski*, Badania nad obecnošcia zarazka przesaczalnego w przebiegu posocznicy karpi, Roczn. nauk rolniczych E 67 (4), 517-527, 1956.
4. *Gončarov G. D.*, O vozбудitele krasnuhi, Rybnoe hozjajstvo 31 (10), 34-35, 1955.
5. *Gončarov G. D.*, Virusnaja krasnuha ryb v SSSR i za rubežom, Soveščanija po boleznjam ryb, str. 28, 1957.
6. *Gončarov G. D.*, Virusnaja krasnuha ryb v SSSR i za rubežom. Trudy soveščanija po boleznjam ryb, 34-38, 1959.
7. *Kabaivanski J., H. Slavkov, D. Savov, St. Stanoev*, Hemoragična septikemija po šarenite u nas, Izvestija na mikrobiološki institut, Blgarska akademija na naukite, 5, 257-266, 1957.
8. *Kunst Lj.*, Kultura bubrežnog tkiva šarana, Vet. arhiv 31 (9/10), 241-245, 1961.
9. *Kunst Lj.*, Kultura bubrežnih stanica šarana, Vet. arhiv (5/6), 121-126, 1962.
10. *Tec V. I.*, O kontagioznosti jazvennoj formy krasnuhi, Naučno-tehničeskij bjulleten GosNIORH (13-14), 105-108, 1961.
11. *Tec V. I., G. S. Jakovleva*, Polučenje kulture tkanej karpa i jejo primenenie pri izučenij etiologiji krasnuhi ryb, Nauč.-tehn. bjulleten GosNIORH (15), 73-77, 1962.
12. *Tomašec I., E. Topolnik, M. Winterhalter*, Istraživanja o virusnoj etiologiji zarazne vodene bolesti šarana, Rad Jug. akad. 316, 75-90, 1958.
13. *Tomašec I., N. Fijan*, Prilog problemu prirodnog prenošenja zarazne vodene bolesti šarana, Ribarstvo Jug. 16 (5), 113-116, 1961.
14. *Tomašec I.*, Lutte contre les principales maladies infectieuses des poissons. Office International des Epizooties, Rapport à la XXVIII<sup>e</sup> Session R. No 548, 1960.
15. *Tomašec I.*, Le probleme de la lutte contre l'Hydropisie infectieuse de la carpe (Expériences effectuées en Yougoslavie), Bull. Off. int. Epiz., 59 (1-2), 147-152, 1963.

Iz Instituta za zarazne i invazione bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Ovaj rad je izvršen sredstvima Saveznog fonda za naučni rad.

Primljeno na sjednici Odjela za medicinske nauke 6. I 1964.

KAUZALNO RJEŠENJE ZAGONETKE ZAŠTO  
TANKE PREGRADE IZMEĐU PNEUMATSKIH  
PROSTORA NE BUDU RESORBIRANE

VAN GILSE je studirajući razvitak sfenoidnog sinusa i oslanjajući se na radove COPEA i osobito CONGDONA ustanovio pravilo po kome se prilikom pneumatizacije resorpcija kosti ustavlja u blizini sluznice neke druge šupljine ili nekog zatona istoga sinusa. Kod razvitka sfenoidnog sinusa sluznica desnog primakne se sluznici lijevog sinusa, ali ona tanka koštana pločica koja se još nalazi između te dvije sluznice ne bude resorbirana; ona ostaje trajno održana kao Septum sinuum sphenoidalium. Isto tako nastaju i razne parcijalne pregrade u jednom te istom sinusu čim se u toku pneumatizacije dvije sluznice primaknu jedna drugoj, a među njima bude obuhvaćena pločica koštane supstancije.

Već je CONGDON primijetio da ako kod pneumatizacije zbog nekog lokalnog otpora nastanu dva recessa oni će se trajno održati zbog reakcije osteogenetskog sloja zida jedne šupljine na perist susjednoga prostora. VAN GILSE je to formulirao ovako: »Die der Erfahrung entsprechende Regel, dass die Pneumatisation aufhört, bevor zwei resorbierende Schleimhautflächen aufeinander stossen, bewirkt, dass eine einmal gebildete Leiste resp. Septum nur dann wieder verschwindet, wenn die Resorption in dem anfangs gehemmten Meridian wieder so viel rascher geschieht, wodurch die beiden entstandenen Resorptionsflächen überholt werden.« Na drugom mjestu veli: »Man kann die Erfahrung, dass in normalen Verhältnissen die Knochengrenzen nicht überschritten werden, auch auf diese Weise ausdrücken, dass die Pneumatisation bei der Nähe von Weichteilen aufhört und zwar so, dass stets eine mehr weniger dünne trennende Knochenschicht den Luftsack umgibt.« »Histologisch sieht man an derartigen Stellen, wo die Pneumatisation ihre normale Grenze erreicht hat, eine dünne Schleimhaut, während nur wenige Gewebssprossen in den glatten Knochen eindringen: das Bild der herabgesetzten resp. ausgewirkten Resorption.« S obzirom na mjesta gdje se to događa veli:

»Die genannte Regel gilt 1. für zwei sich nahende Resorptionsflächen: von beiden Keilbeinhöhlen; von Keilbeinhöhle und Siebbeinzelle, auch von einem Recessus der Höhle und der Haupthöhle. 2. Gilt diese Regel auch für den Inhalt des Canalis opticus, des Sulcus caroticus, des Foramen rotundum, des Canalis pterygoideus, des Dorsum sellae und der Fissura sphenopalatina . . .«.

Iz tog pravila izlazi da septum sfenoidnih sinusa nije srednji medijani dio prvobitno spongioznog trupa sfenoidne kosti. Taj septum uopće nije preformiran. Gdje god se primaknu sluznica desnog i lijevog sfenoidnog sinusa jedna drugoj, tu nastane i tu se održi septum. To može biti u sredini u medijanoj liniji ako sluznica uraste sasvim jednolično u oba sinusa pa se tako desna i lijeva susretnu u sredini. Ali ako sluznica urasta u jedan sinus mnogo brže nego u drugi, one se neće susresti u sredini, nego više ili manje sa strane, i to na strani onog sinusa kome je sluznica urastala sporije. (Ovdje se govori samo o urastanju sluznice radi što kraćeg izražavanja; kako se taj proces možda u stvari događa, o tom će biti kasnije riječ.)

O smještaju septuma nalazimo kod VAN GILSEA tačan prikaz: »Oben wurde schon betont, dass das Septum intersinusale jener Teil des Keilbeins ist, welcher zwischen den von beiden Seiten den Knochen pneumatisierenden Schleimhautbezirken übrigbleibt. Das Septum wird von der Pneumatisation geschont nach der Regel, dass die Resorption in der Nähe der Schleimhaut einer anderen (oder eines Recessus derselben) Höhle Halt macht. Je gleichmässiger die Resorption von beiden Seiten geschieht, desto mehr steht das Septum gerade in der Mittellinie . . .«.

To isto vrijedi i za septum čeonih sinusa. Sasvim je krivo reći, kao što se to kadikad u udžbenicima čita, da je Spina nasalis ossis frontalis nastavak septuma čeonih sinusa. Ona to može biti, ali ona to nipošto ne mora biti uvijek. Septum čeonih sinusa nije primarno osnovan ako se srastu obje polovice čeone kosti kako to u pravilu i biva, nego septum nastaje po CONGDON-VAN GILSEOVU PRAVILU ondje gdje se sućele sluznice desnog i lijevog čeonog sinusa. Ako one urastu sasvim jednolično, to će se dogoditi u medijanoj liniji, pa će tad spina nasalis ossis frontalis izgledati zbilja kao direktni nastavak septuma između čeonih sinusa. Ako međutim sluznica desnog sinusa urasta mnogo brže, septum će nastati lijevo od medijane linije, jer će se tamo sluznice sućeliti. Ako li pak urasta sluznica lijevog sinusa brže, nastat će septum na desnoj strani od medijane linije.

Istim tim pravilom tumače se i mnogobrojna subseptna, djelomična septa, koja se često vide u jednom te istom čeonom sinusu. Prema tome ni oni navodi u literaturi prema kojima kod nesimetrično smještenog septuma njegov najdonji dio stoji uvijek medijano, pa se septum tek u gornjem svom dijelu zavija na jednu ili na drugu stranu, ne mogu biti tačni. Iz takvog se navoda vidi da nije shvaćena prava priroda septuma.

U našoj radnji »O sfenoidnom i o dosad nepoznatom frontosfenoidnom izdanku gornje čeljusti kao i o načinu njihove pneumatizacije« mi smo pokazali na mnogo primjera kako CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO dolazi do izražaja. Ako naime u taj izdanak urastu sluznice iz raznih susjednih prostora, a tih, kako smo to pokazali, ima u susjedstvu šest, onda u njemu nastane više pneumatskih prostora, ali su svi ti prostori ipak potpuno odijeljeni jedan od drugoga. Ondje gdje se primaknu dvije razne sluznice ne dolazi do stvaranja nekog komunikacionog otvora, nego ostane održana tanka koštana pločica koja se nalazi između te dvije sluznice.

U toj radnji smo opisali također i jednu upravo iznenadujuću pojavu koja osobito jarko osvjetljava CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO. Na maksilama koje potječu od jednog 6-godišnjeg djeteta kao i na obje maksile od jednog 23-godišnjeg muškarca mi smo u toj radnji opisali dosad nepoznatu mogućnost da jedan izdanak gornje čeljusti, koji smo nazvali *Processus frontosphenoidae maxillae*, izraste i uloži se između prednjeg ruba sfenoidne i stražnjeg ruba etmoidne kosti, tako da ih odmakne jednu od druge, i to čitavom njihovom širinom. Takav se izdanak gornje čeljusti tad proteže kroz čitavu debljinu lateralnog zida nosne šupljine tako da seže od orbitalne duplje sve do u recessus sphenothmoidalis nosne šupljine. On čini dakle u tom slučaju jedan dio lateralnog zida sfenoetmoidnog zatona.

I tačno u tu sasvim usku zonu, koja je kod odrasloga visoka 6 mm, a široka svega samo 2 mm, urasla je sluznica sfenoetmoidnog zatona nosne šupljine i izvršila pneumatizaciju isključivo samo na tom mjestu, dok je sve u okolini ostavila nedirnutim. Tako ta plosnata ćelija koja je na taj način nastala izgleda nalik na plosnatu dozu za cigarete ili na neku usku šuplju opeku uloženu između sfenoidne i etmoidne kosti.

Zanimljivo je i na prvi mah zagonetno bilo kako je to moguće da je sluznica urasla tačno u tu usku visoku ploču i izdubila je u čitavom njenom opsegu, počevši od nosne šupljine pa sve do granice očne duplje, a da nije urasla niti ispred nje niti iza nje. Upravo je začudna bila tolika apsolutna selektivnost, pa smo u našoj radnji rekli da se gotovo dobiva impresija kao da sluznica sfenoetmoidnog zatona osjeća da se tu u lateralni zid nosne šupljine utisnuo neki strani element pa samo njega napada i samo njega razara. Međutim kad smo pogledali preparat bolje, vidjeli smo da se tu radi samo o primjeni CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA. Iza toga mjesta nalazio se naime sinus sphenoidalis, a ispred njega pak jedna pneumatska ćelija etmoidnog labirinta. I ispred i iza frontosfenoidnog izdanka maksile bila je dakle naprama sluznici nosne šupljine sluznica dotičnih susjednih pneumatskih šupljina i stoga koštane pločice koje su ležale između tih sluznica morale su prema CONGDON-VAN GILSEOVU PRAVILU biti održane. Samo u onoj uskoj oblasti između ta dva mjesta, u oblasti frontosfenoidnog izdanka maksile, bila je ispod sluznice samo spongiozna supstancija i u tu je supstanciju mogla sluznica nosne šupljine nesmetano urastati.

U jednoj drugoj našoj radnji »Prilozi poznavanju razvitka i grade čovječije gornje čeljusti i maksilarnog sinusa« mi smo prikazali 120 nalaza s osnovanim ili razvijenim parcijalnim septumom u čeljusnoj duplji. Na tom velikom materijalu imali smo mogućnost da u stopu pratimo razvitak toga septuma. I tu se pokazalo da u svakom pojedinom slučaju, bez ikakvog izuzetka, dolazi do primjene CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO.

I u etmoidnom labirintu, kad se već razvije, vidi se da su između stražnjih i prednjih njegovih ćelija veoma tanki prozračni koštani zidovi. Ali ti koštani zidovi, ma kako bili tanki, održavaju se stalno i ne budu uzurirani. I kod njihova održavanja dolazi do izražaja i do primjene isto CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO.

Kao što vidimo, CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO tumači nam čitav niz pojava kod procesa pneumatizacije: ono nam tumači nastajanje svih vrsta potpunih pregrada, a osim toga ono nam je omogućilo da dobijemo pravo razumijevanje kako nastaju i zašto nastaju djelomične, parcijalne, pregrade, i to kako u sfenoidnom, tako i u ostalim paranazalnim sinusima.

Međutim, kako da protumačimo samo CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO? Ako nam ono i tumači čitav niz pojava, samo to pravilo ostaje pri tom ipak zagonetno. Jer nije bez daljega jasno, zašto se ne bi mogla resorbirati ona tanka koštana pločica koja se nađe između dvije sluznice pneumatikih prostora. Moramo sebi dakle postaviti pitanje: koji je razlog da to pravilo uopće postoji, koji je uzrok da ona tanka pločica ne bude resorbirana, nego se trajno održi. Jer neki važni razlog tome naravno mora da postoji.

Tumačenja koja su u tom pogledu dali CONGDON i zatim VAN GILSE ne daju nam ipak dovoljno jasnu predodžbu o tom šta se tu upravo događa. CONGDON veli da do toga dolazi zbog reakcije osteogenetskog sloja zida jedne šupljine na periošt susjednoga sloja. VAN GILSE veli da pneumatizacija prestaje prije negoli se dvije pneumatizirajuće sluznice dotirnu; a na drugom mjestu konstatuje da pneumatizacija prestaje u blizini mekih dijelova, tako da uvijek tanki koštani sloj koji ih odjeljuje okružuje zračni mjehur. Time je samo pravilo dovoljno jasno okarakterisano, ali time nije razjašnjeno šta je ono bitno što se u unutrašnjosti događa i šta je pravi uzrok da to pravilo uopće dolazi do izražaja.

Upoznati neko pravilo i razraditi njegovu primjenu egzaktno do u najmanje pojedinosti jedna je stvar, a upoznati međutim šta je njegova bitnost stvar je sasvim druga. U tome nema nikakve kontradikcije.

Da se to ilustrira, neka mi je dozvoljeno da ovdje navedem jednu poznatu komparaciju. Newtonov zakon gravitacije poznat je već odavna, već od XVII stoljeća. Taj nam zakon tumači, pored mnogih pojava u biologiji kao i u drugim prirodnim naukama, također i gibanje mjeseca oko zemlje, gibanje zemlje i ostalih planeta oko sunca, gibanje sunca u galaksiji, jednom riječi njim je protumačena matematski tačno cijela

nebeska mehanika; a međutim šta je sama gravitacija po sebi, šta je bitnost njezina, to još ne zna nitko, to je još uvijek jedna od najvećih tajna prirode.

Tako je to nekako i u ovom našem slučaju. Samo pravilo je dođuse utvrđeno kao i sve njegove primjene; ali prava njegova bit ipak je ostala neupoznata, ne zna se još uvijek tačno šta je pravi uzrok da to pravilo postoji.

Držimo da je potrebno bar pokušati da se nađe neko prihvatljivo tumačenje za tu interesantnu, a u isto vrijeme i važnu pojavu. Mi mislimo da se tumačenje može naći ako se prati normalni tok pneumatizacije neke spongiozne kosti, npr. trupa sfenoidne kosti, ali i svake druge kosti u okolici nosne šupljine gdje se događa pneumatizacija.

#### TOTALNI I PARCIJALNI SEPTUMI

Ali prije nego što prijedemo na pokušaj tumačenja te pojave, potrebno je da ustanovimo da li CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO ima apsolutnu vrijednost, da li dakle ima vrijednost zakona, ili možda ipak ima i izuzetaka od njega. To se može utvrditi na taj način da se pretraži veći broj objekata i ustanovi da li ima slučajeva u kojima ipak komuniciraju desni i lijevi sfenoidni sinus kroz neki otvor u septumu. To je isto tako potrebno istražiti i kod septuma između desnog i lijevog čeonog sinusa. Pa ako se ustanovi da takvi komunikacioni otvori kadikad postoje, trebat će, ako je to moguće, utvrditi da li su oni rezultat pneumatizacijskog toka, ili su možda posljedica nekog drugog procesa.

Takvo je istraživanje potrebno tim više što su u literaturi navodi o tom vrlo različiti, pa štoviše i potpuno kontradiktorni. Ona osciliraju od nespominjanja da takve komunikacije uopće mogu postojati pa do tvrdnje da se one nalaze često, te prema tome ovo pravilo o kome mi ovdje govorimo ne bi ni postojalo.

Međutim prije nego što prijedemo na ta istraživanja, potrebno je jednu stvar razjasniti, jer je to mnogima, pa i stručnjacima, nejasno, te otuda nastaju velike zablude i nesporazumi.

Postoje naime dvije potpuno različite vrste septuma, i to: 1. *totalni* (potpuni, kompletni) septum i 2. *parcijalni*, djelomični septum ili subseptum. Te se dvije vrste pregrada razlikuju principijelno.

*Totalni septum* odjeljuje dva pneumatska prostora kompletno te ne postoji nikakva komunikacija između njih. To znači da je svaki od ta dva pneumatska prostora nastao samostalno, od svoje posebne osnove, te stoga svaki mora imati svoj posebni otvor koji vodi u nosnu šupljinu. Takvim totalnim pregradama su odijeljeni npr.: desni i lijevi sfenoidni sinus; desni i lijevi čeonni sinus; prednji i stražnji dio maksimalnog sinusa u onim slučajevima kad je jedan nastao iz srednjeg, a drugi iz gornjeg nosnog hodnika; grupa prednjih od grupe stražnjih etmoidnih ćelija etmoidnog labirinta; zatim su takve totalne pregrade one između pneumatske šupljine koja može nastati u orbitalnom izdanku nepčane

kosti i sfenoidnog sinusa; između iste šupljine i maksilarnog sinusa; između iste šupljine i neke ćelije etmoidnog labirinta; između najstražnje ćelije etmoidnog labirinta i sfenoidnog sinusa itd.

*Parcijalni septumi* su naprotiv nešto *sasvim drugo*. Oni ne odjeljuju dva razna prostora, nego odjeljuju samo razne partije, razne zatone jednog te istog prostora. Te pregrade ne idu nikad skroz, nego uvijek imaju u sebi manje ili veće ili vrlo velike otvore kroz koje takav zaton komunicira s glavnom šupljinom, glavnim dijelom sinusa iz koga je taj zaton i nastao. Količegod bilo takvih parcijalnih pregrada, pa prema tome i zatona, svi ti zatoni imaju jednu jedinu zajedničku komunikaciju s nosnom šupljinom, jer su iz toga jednog mjesta i nastali.

Takvi parcijalni septumi (septula, subsepta) nalaze se često u sfenoidnom sinusu; VAN ALYEA prikazuje da dolaze u 41% svih slučajeva, dok su ih RADOJEVIĆ i JOVANOVIĆ našli u 36 na sto sfenoidnih sinusa. I u čeonom sinusu parcijalne su pregrade veoma česte. S. JOVANOVIĆ ih je našao na 45% svih objekata u raznim stepenima izraženosti i s različitim smještajem. I u maksilarnom sinusu također nađu se takve parcijalne pregrade, iako manje često. Mi smo svojedobno istražujući pravi mehanizam nastajanja takvih parcijalnih pregrada u maksilarnom sinusu, nasuprot ranijoj teoriji UNDERWOODA, opisali 120 slučajeva na kojima je u čeljusnoj duplji bio razvijen djelomični septum te smo te nalaze dobrim dijelom i na slikama prikazali.

CONGDON i VAN GILSE su, kako je naprijed spomenuto, razjasnili taj proces kojim dolazi do stvaranja parcijalnih septuma. Ako dakle za vrijeme pneumatizacije sluznica naiđe na neku zapreku, krvnu žilicu ili vezivni tračak, to ona u tom meridijanu zaostane, a urasta sa strane te zapreke desno i lijevo i tako nastanu dva zatona. Čim se sluznice tih dva zatona približe jedna drugoj, tad ona tanka koštana pločica koja preostane između njih dobije na neki način imunitet, tako da ona ne može biti resorbirana, nego se stalno održava kao parcijalni septum. Takav djelomični septum nema dakle sa prije spomenutim potpunim, totalnim, septumom nikakva posla i to se dvoje ne smije zamjenjivati.

Da bi se naprijed spomenuto istraživanje moglo izvršiti, potrebno je dakle strogo i sigurno moći razlikovati što je *totalni*, a što je *parcijalni* septum, budući da se siguran odgovor na gore postavljeno pitanje može dobiti samo na osnovu istraživanja totalnih septuma. Parcijalni septumi naime već po načinu svoga postanka moraju imati u sebi komunikacione otvore, budući da oni ne odjeljuju različite prostore, nego samo pojedine zatone jednoga te istog prostora, dok totalni septumi odjeljuju dvije sasvim različite šupljine koje su se razvile od dvije različite osnove. Totalni septumi dakle prema CONGDON-VAN GILSEOVU PRAVILU nemaju u sebi komunikacionih otvora, oni, da još jednom naglasimo, kompletno odjeljuju dva prostora te se zato i zovu kompletni, totalni septumi.

Ima jedan znak po kome se mogu razlikovati totalni od parcijalnih septuma. Ako naime neki prostor, koji može imati u sebi jednu ili više pločastih pregrada, ima samo jedan jedini otvor kroz koji komunicira

s nosnom šupljinom, onda su sve te ploče samo parcijalne pregrade. Ako li međutim od dva susjedna prostora ima svaki svoj poseban otvor kojim komunicira s nosnom šupljinom, onda je pregrada između njih totalni septum.

Nakon što smo fiksirali tu bitnu razliku, treba sad da pogledamo kako su u literaturi prikazani totalni septumi. Zatim ćemo iznijeti naše nalaze na pregledanih 600 objekata. Najprije ćemo to izvršiti za septume između sfenoidnih, a nakon toga za septume između čeonih sinusa.

#### KOMUNIKACIJE IZMEĐU DESNOG I LIJEVOG SFENOIDNOG SINUSA. NAVODI U LITERATURI

Najveći broj autora opisujući septum sinuum sphenoidalium ne spominje uopće da bi postojala neka mogućnost da se u tom septumu pojavi kakav komunikacioni otvor (BRAUS-ELZE, CHIARUGI, FRAZER, GÉRARD, GRAY-JOHNSTON-WHILLIS, GRÜNWARD, HOVELACQUE, MERKEL, MORRIS-SCHAEFFER, PATURET, POIRIER-CHARPY-NICOLAS, ROUVIÈRE, SIEGLBAUER, V. SPEE, TESTUT-JACOB, TESTUT-LATARJET i dr.).

ZUCKERKANDL nije također nikada našao komunikaciju između desnog i lijevog sfenoidnog sinusa kroz septum. On spominje samo da u *lateralnom* zidu sinusa mogu postojati dehiscensije zida prema srednjoj lubanjskoj udubini te tad sluznica sinusa dolazi u kontakt s durom.

SIEUR-JACOB u svojoj monografiji o nosnoj šupljini vele da septum između sfenoidnih sinusa nikad nijesu našli probušen: »Ordinairement, la cloison est d'une minceur extrême et réduite à l'état de lame papyracée; cependant, même dans les cas de sinuite chronique, nous ne l'avons jamais trouvée perforée.« Oni međutim navode ispod crte da su u literaturi našli spomenut jedan takav slučaj (Toubert).

Drugi autori smatraju naprotiv da mogu postojati komunikacije između desnog i lijevog sfenoidnog sinusa kroz septum. BUCHANAN-FRAZER vele da je septum sfenoidalnih sinusa često nekompletan. AUGIER koji, kako se čini, sam nije nikad našao takvu komunikaciju navodi da se vrlo rijetko spominje perforacija septuma, pa štaviše i njegovo nedostajanje. Ovo posljednje se tiče slučaja Zuckerkandlova s jednom sinusnom šupljinom i s dva otvora, desnim i lijevim. M. HAJEK, koji također, kako se čini, sam nije nikada našao takav slučaj, veli da više autora navode postojanje defekta u septumu. Spominje dalje da septum može i potpuno nedostajati tako da se obadvije šupljine stope u jednu, u kom slučaju jedan od dva ostiuma može i manjkati. STUPKA veli da može biti samo jedan sinus sfenoidalni s jednim ili s dva otvora, s jednim otvorom onda ako se sinus razvio samo na jednoj strani te se proširio i u drugu stranu sfenoida. S dva otvora ako je septum bio naknadno resorbiran. On navodi OPPIKOFERA koji je to navodno našao 14 puta na 690 odraslih.

Iznenaduje nas kako je LE DOUBLE prikazao septum između sfenoidnih sinusa. On veli da taj septum može potpuno nedostajati, da može biti nepotpun ili fenestriran, ili izvijen na jednu stranu. To se sve navodi kao ekvivalentno, bez ikakvog ograničenja. Da to razumijemo, postoje dvije mogućnosti. Ili LE DOUBLE nije uočio bitnu razliku između pravog, kompletnog septuma, onog koji odjeljuje desni i lijevi sfenoidni sinus, i između parcijalnih septuma koji odjeljuju samo pojedine zatone jednog te istog sinusa. Ili, a to je druga mogućnost, on, iako je pregledao veliki materijal i opisao sve varijacije lubanjskih kostiju te o tom napisao dvije dobre knjige, ipak nije imao na raspolaganju dovoljno lubanja prepiljenih medijano (paramedijano) sagitalno, jer tad bi odmah bio o svemu načisto.

U novije doba najbolji prikaz tih odnosa dali su S. RADOJEVIĆ i S. JOVANOVIĆ u svojoj radnji »Proučavanje morfologije i topografije sfenoidnog sinusa kod čoveka« (1956). Oni tu vele: »Normalno međusinusna pregrada je potpuna, bez urođenih perforacija i dehiscencija. Sieur i Jacob navode samo jedan slučaj (Toubert) perforacije pregrade; ostali autori nisu je nikad našli. U našoj zbirci od 300 lubanja, perforacija je nađena u 3 slučaja (1 na 100 slučajeva). U sva tri slučaja otvor je bio pravilnih ivica, okrugao, veličine glave čiode. Perforacija međusinusue pregrade, dakle može da postoji, ali je retka.«

Oni su sasvim ispravno strogo lučili spomenute prave potpune pregrade od nepotpunih koštanih pregrada (septula) kojih su našli mnogo više (36%), ali koje su nešto sasvim drugo nego li prave pregrade, te su ih stoga i posebno proučili i prikazali odvojeno u posebnom poglavlju svoje radnje.

Kao što se vidi, u pogledu mogućnosti komunikacije sfenoidnih sinusa navodi su u literaturi veoma različiti.

S tim u vezi moramo ovdje naročito naglasiti *da mi u literaturi nigdje nijesmo mogli naći naslikan preparat na kome bi se vidio prikazan komunikacioni otvor u septumu između dvaju sfenoidnih sinusa.*

#### REZULTATI NAŠIH ISTRAŽIVANJA SEPTUMA IZMEĐU SFENOIDNIH SINUSA

Mi smo pretražili u svemu 600 medijano odn. paramedijano prepiljenih lubanja, tj. 1200 sfenoidnih sinusa, računajući posebno desni i lijevi. Rezultat je ovaj:

Najprije, na 4 lubanje našli smo u septumu sitne komunikacione otvore. Te sve četiri lubanje potječu od starih individuuma (64 g., 65 g., 80 g.). Kod njih su kosti atrofične, osteoporozne, tako da ih je bilo teško prepiliti bez oštećenja.

Sl. 1 prikazuje objekt od 80-godišnjeg muškarca. Vidi se kako se pod pilom lomila atrofična krhka kost. U velikom krilu sfenoida iznad i ispod infratemporalnog grebena nalaze se mnogobrojne dehiscencije. Septum između sfenoidnih sinusa smješten je medijano, vrlo je tanak i krhak.

te je kod piljenja oštećen u prednjem, a osobito u stražnjem dijelu. U septumu se vidi komunikacioni otvor, smješten u gornjem dijelu blizu krova. Ovalna je oblika s promjerima 2 mm: 1½ mm. Rubovi su mu glatki.

Na sl. 2 prikazan je objekt od 64-godišnjeg muškarca. Kost je također atrofična i krhka, u prednjem najgornjem dijelu septum je oštećen piljenjem. Septum između sfenoidnih sinusa tanak je i ima u svom gornjem dijelu jedan iznad drugog dva ovalna komunikaciona otvora s promjerima 2 mm: 1½ mm i 2 mm: 1 mm. Rubovi su im glatki, dulji promjer približno vertikalni.

Na trećem objektu od 80-godišnjeg muškarca (sl. 3) vide se gore i straga tri sitna otvora s promjerima 2,5: 2 mm, 2: 1 mm, i 2: 1 mm s glatkim rubovima. Zid sinusa je ekstremno stanjen, isto tako i septum, što se vidi po jednom u prednjem dijelu napuklom mjestu. Spongioza je rareficirana.

Na jednoj lubanji od 65-godišnjeg muškarca (nije naslikana) ima u septumu gore i straga čisto okrugao otvor širok 2 mm s glatkim rubom.

Primjećujem da su to sve nalazi ustanovljeni na maceriranim lubanjama, tako da ne možemo ništa reći o tom da li su ti otvori postojali i u sluznici. Međutim treba odmah reći da nas ovdje interesuju baš ti otvori u koštanoj septumu, kako bismo mogli tražiti rješenje naprijed postavljenog problema.

Druga su karakteristična komunikacioni otvori koje smo našli na dalja dva objekta. Sl. 4 prikazuje septum sfenoidnih sinusa, gledan s desne strane kod žene od 52 god. U prednjem donjem dijelu septuma, dodirujući samo dno, vidi se komunikacioni otvor, čisto okrugao, s promjerom od 5 mm, potpuno glatkoga ruba. Paralelno s rubom, 2 mm od njega udaljena, vidi se jedna koncentrična pruga, kao plitka brazda. Između te pruge i ruba komunikacionog otvora nazire se još jedna uža koncentrična brazda. Postojanje tih koncentričnih pruga odnosno brazda upućuje nas na opreznost pri prosuđivanju karaktera komunikacionog otvora. Sfenoidni sinus je na obje strane osobito dobro razvijen tako da ulazi u korijen pterigoidnog izdanka, okružuje polovicom opsega canalis rotundus i dopire do foramen ovale.

Sljedeći objekt potječe od 22-godišnje žene. U svom stražnjem donjem dijelu septum pokazuje nešto ovalan, gotovo okrugao, komunikacioni otvor s promjerom od 2 mm. Rub mu je gladak (sl. 5). Pada osobito u oči da je sfenoidni sinus malen, on ima jedva nešto iznad 10 mm u sagitalnom promjeru, dok mu vertikalni promjer iznosi samo 8 mm. Prema gore ne doseže do dna hipofizne udubine, a prema dolje ne dopire do dna trupa sfenoida. Prema nazad seže samo do ispod sredine dna hipofizne udubine. U vezi s tim treba osobito istaknuti da su, u opreci prema ovom tako krhkom sfenoidnom sinusu, i čeonni i maksimalni sinus, kako desno tako i lijevo, dobro razvijeni.

Još je jedna razlika između sfenoidnog i ostalih sinusa veoma upadljiva. Dok i čeonni i maksilarni i etmoidni sinusi pokazuju normalne ravne glatke zidove, mi vidimo kako su zidovi zakržljalog sfenoidnog sinusa neravni, kvrgavi, s mnogobrojnim izbočenjima (v. sl. 5) i imaju mnogobrojne sitne otvore za krvne žile (oko 30 otvora u medijalnom zidu), što se inače ne nalazi u normalnom zidu sinusa. To nas upućuje na to da je tu postojala jaka hiperemija uslijed nekog kroničnog, vjerovatno gnojnog, upalnog procesa, koja je dovela do umnažanja i proširenja krvnih žila i do nastajanja otvora i kanala za njih u kosti. (Uporedi na istoj slici 5. desno i gore, zid gornje stražnje etmoidne ćelije kojoj je zid savršeno pravilan, ravan i gladak.)

U vezi s ovim hoću ovdje da prikazem još jedan nalaz na lubanji od 77-godišnje žene (sl. 6), koji doduše predstavlja komunikaciju između desnog sfenoidnog sinusa i stražnje gornje etmoidne ćelije. Ni takva komunikacija, prema CONGDON-VAN GILSEOVU PRAVILU, ne bi smjela postojati. Komunikacioni otvor je gotovo savršeno okrugao, ima promjer od 4 mm i ima gladak rub. Nalazi se u desnom gornjem prednjem uglu desnog sfenoidnog sinusa, iza sam krov i prednji zid. Na slici se vidi ispod i nešto ispred toga otvora normalna ovalna apertura sinus sphenoidalis. I na ovom objektu odmah pada u oči kako je zid sfenoidnog sinusa, isto onako kao i na objektu prikazanom na slici 5. nepravilan, neravan, kvrgav i kako pokazuje mnogobrojne (ima ih preko 100) proširene otvore za vene. I ovdje možemo iz toga zaključiti da je postojala dugo vremena jaka hiperemija uslijed nekog kroničnog upalnog i vjerovatno gnojnog procesa.

Spomenimo napokon da smo na desnoj strani objekta prikazanog na sl. 4 našli sasvim analogan otvor kao kod objekta maločas prikazanog između desnog sfenoidnog sinusa i jedne od stražnjih etmoidnih ćelija. Postojala je međutim jedna bitna razlika: tamo se naime nijesu vidjele nikakve patološke promjene zida. Na žalost otvor je bio toliko oštećen da se nije mogao dobiti potpuni pregled.

To je sve što smo mogli naći na 600 lubanja koje su bile po sredini raspiljene i gdje je na svakoj sfenoidni septum bio dobro pristupačan istraživanju te je i bio svaki put pažljivo pregledan, a gdje je to bilo potrebno i pod binokularnom lupom.

Kod prosuđivanja naprijed opisanih nalaza treba imati u vidu slijedeće.

Ova je radnja zamišljena i izrađivana sa svrhom da se nađe ako je to ikako moguće, neko kauzalno tumačenje CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA, te čudne i dosad nerazjašnjene zagonetke.

Ako se dakle istražuju komunikacioni otvori, to se može vršiti na dva različita načina. Jedan je način čisto statistički. Ustanovi se broj komunikacionih otvora, ako ih ima, i izračuna njihov procenat bez obzira na biološki proces koji je do njih doveo. Taj dobiveni rezultat smatra se tad kao ustanovljena činjenica. On to doduše može biti, ali on to ne mora biti uvijek. Štaviše, u nekim slučajevima takav rezultat može značiti teško zamučenje problema.

Takav način istraživanja za naše svrhe nije pogodan. Kao što je naprijed rečeno, mi ovdje želimo naći kauzalno tumačenje CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA i kod toga rada moramo najprije sigurno ustanoviti da li može kod normalnog procesa pneumatizacije doći do resorpcije koštanoga septuma na nekom mjestu i do stvaranja komunikacionog otvora.

Poznato je, međutim, da do uzuriranja zida nekog sinusa može doći i uslijed nekog drugog procesa koji s pravom pneumatizacijom nema nikakve veze. Već je ZUCKERKANDL opisao nastajanje dehiscencija u lateralnim zidovima sfenoidnog sinusa. On veli: »Ich hatte einigemale Gelegenheit Dehiscenzen physiologischer Provenienz in den Wandungen des Keilbeinkörpers zu beobachten; es waren kleine, in den seitlichen Wänden etablierte und in die mittlere Schädelgrube führende Lücken, die insoferne einiges Interesse beanspruchen, als durch sie die Bekleidung der Höhle mit der harten Hirnhaut in Berührung gerät.« I KRIŽAN je primijetio takove dehiscencije u dnu udubine impressio carotica. Poznato je zatim da u medijalnom zidu maksilarnog sinusa može nastati sekundarni drugi otvor, doduše ne u kosti, nego u mekanom dijelu sinusnoga zida, i to ondje gdje je donja stražnja fontanela, ona koja leži ispod kvakastoga izdanka etmoida. To je *ostium maxillare accessorium*. Taj novi drugi otvor nema, kao što je poznato, s pneumatizacijskim procesom kojim nastaje sinus maxillaris nikakva posla. ZUCKERKANDL je već oдавно opisao, a i mi smo to mogli potvrditi na više objekata, kao i drugi autori, da recessus palatinus maksilarnog sinusa može duboko urasti u nepčani nastavak gornje čeljusti tako da od medijane linije nije udaljen više od 4 mm. To se nalazi samo na lubanjama ljudi duboke starosti. To naravno nije normalna pneumatizacija nepčnog nastavka, nego posljedica atrofije kosti.

Uzuriranje zida nekog sinusa može dakle imati više raznih uzroka i stoga moramo biti u oprezu ako sasvim izuzetno nađemo neki otvor u septumu te valja pomišljati i na to da li možda nema i on neki od tih sekundarnih uzroka.

Stoga, dakle, obrađujući pretraženi materijal, ne smijemo naše nalaze jednostavno zbrajati, nego moramo strogo diferencirati ako želimo da dođemo do rješenja zagonetke.

Da bismo neki otvor u septumu priznali kao komunikacioni otvor koji je nastao kao izuzetak od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA, on mora da ispuni slijedeće uvjete:

1. Otvor mora da je nastao u onoj životnoj dobi kad se normalno obavlja pneumatizacija dotičnog sinusa. Ono što nastane 20 ili možda 50 godina kasnije, to ne možemo smatrati da je nastalo normalnim pneumatizacijskim procesom. WITTMACK doduše smatra da se stvaranje pneumatskih ćelija u temporalnoj kosti nastavlja neograničeno dugo, sve do u starost. Međutim to stvaranje pneumatskih ćelija je proces drugoga tipa kome nema analogona kod pneumatizacije paranazalnih prostora, na što je već VAN GILSE upozorio.

2. Zid sinusa treba da ima normalan izgled kao i kod drugih normalnih sinusa. On ne smije pokazivati patološke promjene, npr. tragove upalnih procesa.

Ako dakle neki nalaz komunikacionog otvora ne ispunjava gornje uvjete, onda se on mora označiti kao nesiguran nalaz, dakle kao nalaz koji se ne može računati kao siguran dokaz da se tu radi o nekom izuzetku od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA. Ako se npr. nađe komunikacioni otvor u septumu sfenoidnih sinusa na lubanji starijeg individua gdje je već odavno bio završen proces pneumatizacije, mi ne možemo više znati kad je on nastao. Moglo bi biti doduše da je on nastao u mladosti dok je još trajao normalni proces pneumatizacije, ali bi moglo biti također i to da je nastao mnogo kasnije uslijed nekog drugog procesa. Baš vrijeme njegovog nastajanja bilo bi važno za rješavanje problema o kome se ovdje radi; ali to vrijeme mi više ne možemo znati. Stoga se takav nalaz mora označiti kao za naše svrhe nesiguran nalaz.

Ili se može naći komunikacioni otvor u septumu nekog sfenoidnog sinusa kojega zid pokazuje očite tragove nekog patološkog procesa, koji npr. umjesto da je ravan i gladak kao što je zid svakog normalnog sinusa pokazuje neravnu površinu, nepravilna izbočenja, kvрге i kvržiце i na kom se osim toga vide mnogobrojni otvori kanala za novonastale krvne žile, kojih nema u zidu normalnog sinusa. Ti novonastali kanali dokazuju da je tu postojala dulje vremena jaka hiperemija, zbog čega su se umnožile i povećale krvne žile, kao i da je postojao dugotrajan upalni proces koji je doveo do deformacije sinusnoga zida.

Nalaz komunikacionog otvora na takvom objektu opet nas dovodi u nepriliku. Ne možemo naime sigurno znati da li je otvor nastao prije negoli se razvio upalni proces, ili je on možda nastao tek pošto se taj patološki proces razvio, te je on možda i nastao kao njegova posljedica. Možemo se doduše domišljati o čemu se tu zapravo radi, ali na svaki način mi ni u kom slučaju ne smijemo takav nalaz označiti kao siguran dokaz da se tu radi o izuzetku od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA. To su dakle također nesigurni nalazi.

Naprijed je u pregledu literature prikazano da najveći broj autora uopće i ne spominje mogućnost nastajanja komunikacionih otvora između sfenoidnih sinusa. Manji broj autora navodi da takvi otvori mogu postojati, po nekima se oni štaviše i često nalaze. Mi bismo jako voljeli da možemo pogledati slike takvih komunikacija koje se navode u literaturi da bismo ih mogli podvrgnuti kontroli s obzirom na uslove koji su naprijed navedeni te da tako utvrdimo da li su to sigurni ili nesigurni nalazi. To bi bilo za naše dalje zaključivanje od velike koristi.

Međutim, to na žalost nije moguće provesti. Mi nigdje u literaturi nijesmo mogli naći na slici prikazano komunikacioni otvor u septumu između desnog i lijevog sfenoidnog sinusa. Ne možemo stoga ništa ni reći o njima. Moramo se dakle osloniti samo na naše nalaze.

Mi smo se bili ponadali da ćemo kao prvi donijeti na slici prikazanu takvu pravu komunikaciju u septumu između sfenoidnih sinusa. Ali se bojimo da ni nama to ne će biti moguće.

Pogledajmo dakle sada naše nalaze. Na slikama 1, 2 i 3 prikazani su komunikacioni otvori na tri staračke lubanje od 80, 64 i 80 godina. Prema atrofičnom stanju lubanjskih kostiju mora se zaključiti da se tu radi o staračkoj pojavi dehiscencije te ti slučajevi ne dolaze u obzir za pitanje o kome se ovdje radi. Mi te slike donosimo samo kao upozorenje da ne bi tkogod od kasnijih istraživača ovakve nalaze nepažnjom unosio u statistiku pravih komunikacionih otvora.

Na sl. 4 vidi se vrlo impresivan i dosta velik komunikacioni otvor u sfenoidnom septumu žene od 52 god. Ovaj nalaz još najviše naliči na pravi komunikacioni otvor između sinusa. Ipak, mi ga ne možemo priznati kao potpuno siguran dokaz koji bi predstavljao izuzetak od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA. Dva su razloga za tu našu skepsu. Prvi je razlog taj što objekt potječe od 52-godišnje žene te ne možemo znati da li je komunikacija nastala u mladosti dok je još trajao normalni proces pneumatizacije, ili je nastao kasnije, ili mnogo kasnije uslijed nekog drugog uzroka. Drugi je razlog za našu skepsu taj što se taj veliki okrugli otvor ne nalazi u ravnom glatkom septumu običnog normalnog izgleda, nego se oko otvora nalaze neke dvije koncentrične zone. Takvih koncentričnih zona kod normalne pneumatizacije nijesmo nigdje vidjeli. To nas dovodi na pomisao da je ovdje možda postojao neki proces mnogo većeg promjera nego što je komunikacioni otvor te je on samo u sredini doveo do probušenja septuma, a unaokolo su ostale te dvije zone kao njegovi tragovi. Ovo ne mora biti tačno, ali se ne može ni odbaciti s potpunom sigurnošću. Stoga mi ni ovaj nalaz ne smijemo smatrati kao apsolutno siguran dokaz za postojanje izuzetka od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA. Značajan je ipak nalaz na desnoj strani istog objekta gdje, kao što je spomenuto, postoji otvor između desnog sinusa i jedne od stražnjih etmoidnih ćelija bez patoloških promjena.

Mnogo će lakše biti ispravno prosuditi nalaz koji je prikazan na slici 5. Objekt potječe od 22-godišnje žene, dakle u ovom slučaju od zbilja mladog individuumu. Pneumatizacija sfenoidnog sinusa treba da je u toj životnoj dobi već završena i sinus bi morao imati već normalne dimenzije. Ovdje međutim vidimo da je sfenoidni sinus ostao malen, zakržljao. To tim više pada u oči što su svi ostali sinusi, čeonni, maksilarni, etmoidni, sasvim normalno i dobro razvijeni. Vidimo također i uzrok zbog koga je baš sfenoidni sinus ostao tako zakržljao. Kao što je naprijed opisano, zid njegov pokazuje nepravilne kvрге i udubine kao i mnoge kanale za krvne žile, čega svega u normalnom zidu sinusa nema. To znači da je postojala kronična upala sluznice sinusa s jakom hiperemijom. Po tome što je sinus tako upadljivo malen možemo zaključiti da je ta upala nastala rano, dok je sinus još bio u razvitku, dok njegova pneumatizacija još nije bila završena. Uspoređujući ovaj sinus s objektima naše zbirke od oko 150 kompletnih rastavljenih lubanja, koja obuhvata stadije od

rođenja pa do odrasle dobi, mogli bismo reći da je kod ovog individua upala sinusa započela oko njegove 12. godine. Tom je upalom bio pomećen pneumatizacijski proces i stoga se sinus nije dalje povećavao. Ima doduše slučajeva gdje sfenoidni sinus izuzetno ostane malen i kod normalnih prilika. Ovdje to nije potrebno pretpostavljati, jer postoji vidljiv dovoljan razlog za njegovu zakržljalost.

Kao što se na sl. 5 vidi, taj je upalni proces proizveo mnogobrojne neravnosti, kvрге i udubine u zidu sinusa (vidi npr. udubinu iznad komunikacionog otvora). Nema nikakvog razloga da ne pretpostavimo da je uslijed istog patološkog procesa došlo i do perforacije septuma i nastajanja komunikacionog otvora u njemu. Zašto bi inače baš ovdje na ovom patološki promijenjenom septumu nastao komunikacioni otvor, dok ga nema na stotinama drugih normalnih?

Prema tome ni ovaj nalaz ne možemo označiti kao neki dokaz za postojanja izuzetaka od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA.

Time bismo završili s našim nalazima komunikacijskih otvora u koštanim septumu između sfenoidnih sinusa. *Kao što se vidi, na 600 pretraženih medijano prepiljenih lubanja, gdje je bio omogućen dobar pristup sfenoidnom septumu za njegovo pomnjivo ispitivanje, mi nijesmo mogli naći nijedan slučaj koji bi nedvojbeno sigurno dokazivao da je komunikacioni otvor nastao na zdravom mladom objektu normalnim procesom pneumatizacije.*

Isto to vrijedi i za objekt prikazan na sl. 6, gdje se ne radi o septumu, nego o komunikacijskom otvoru između desnog sfenoidnog sinusa i jedne od stražnjih etmoidnih ćelija. Sfenoidni sinus pokazuje tu iste za kroničnu upalu karakteristične promjene zida kao i objekt prikazan na sl. 5, tj. kvрге, udubljena i velik broj kanala za hiperemične krvne žile. Uzrok nastanka komunikacijskog otvora i ovdje se ima tražiti u patološkom procesu sinusne sluznice.

Jedini izuzetak u čitavoj ovoj oblasti mogao bi biti naprijed spomenuti nalaz na desnoj strani objekta prikazanog na sl. 4. Iako se ne radi o septumu, taj nalaz ipak smatramo značajnim, jer se nijesu vidjeli tragovi nekog patološkog procesa.

Na sl. 7 prikazan je jedan preparat koji bi bez naročito pažljivog posmatranja lako mogao biti shvaćen kao slučaj na kome postoji komunikacijski otvor u septumu normalnog sfenoidnog sinusa. Međutim, to bi bilo sasvim pogrešno. Tu se naime radi o slučaju gdje u trupu sfenoida postoje ne samo dva nego tri odijeljena prostora: desni i lijevi sfenoidni sinus i lijevo od njih još jedna velika etmoidna ćelija koja je urasla u lijevu partiju sfenoidnog trupa. Ona na slici vidljiva široka ravna ploština (straga ozlijeđena rezom) u kojoj se nalazi ovalni otvor glatka ruba nije septum, kako bi se moglo misliti, nego je to lateralni zid lijevoga sinusa, dok se sam septum kao i čitav desni sinus nalaze u desnoj polovici preparata koja na slici nije prikazana. Ovalni otvor koji se vidi

nije dakle komunikacijski otvor u septumu, nego je to normalna apertura lijevog sfenoidnog sinusa koja vodi u nosnu šupljinu. Kroz taj se otvor vidi u dubini još i jedan dio drugog ovalnog otvora koji vodi iz nosne šupljine u veliku etmoidnu ćeliju urašu u trup sfenoida. Ovu sliku donosimo samo radi upozorenja da bi se izbjegla kriva tumačenja.

#### KOMUNIKACIJE IZMEĐU ČEONIH SINUSA

Većina autora ne govori ništa o tom da može doći do komunikacije između desnog i lijevog čeonog sinusa kroz septum (BRAUS-ELZE, BUCHANAN-FRAZER, CHIARUGI, FRAZER, GÉRARD, GRAY-JOHNSTON-WHILLIS, GRAY-LEWIS, HAFFERL, HOVELACQUE, P. JACQUES, MORRIS-JACKSON, MORRIS-J. PARSONS SCHAEFFER, MORRIS-SCHAEFFER, PATURET, ROUVIÈRE, SIEGLBAUER, v. SPEE, ZUCKERKANDL). TILLEY kaže izričito da je septum uvijek potpun.

Drugi opet smatraju da može postojati otvor u septumu, ali su navodi u tom pogledu vrlo različiti. Začuduje nas prikaz CRUVEILHIERA, koji veli da je taj septum gotovo vazda probušen; on vjerojatno nije lučio potpune od parcijalnih pregrada. Tako i LE DOUBLE govori i kod ovog septuma, kao i kod sfenoidnog, samo onako sumarno da može nedostajati, biti perforiran i devijan na jednu ili na drugu stranu; takvom prikazu će biti vjerojatno isti uzrok. Drugi su oprezniji u tom pogledu. SIEUR i JACOB vele da je septum tako tanak da katkada pokazuje dehiscencije te da ne bi predstavljao naročito ozbiljnu zaprku aktivnom i gnojnom procesu. Ipak ističu da osobno nikad nijesu našli takvu komunikaciju. I MERKEL smatra da septum između frontalnih sinusa na normalnim lobanjama nije deblji od 1 mm. U mnogim je slučajevima još tanji, a na ponekim mjestima može i potpuno nedostajati, tako da se pregrada između obiju šupljina sastoji samo od membranoznih tvorba. On ne govori ništa o tom da bi mogla biti i ta membrana probušena pa da nastupa prava komunikacija. M. HAJEK navodi da su defekti u frontalnom septumu više puta opaženi, ali samo na maceriranim kostima.

BÖGE je, istražujući veći broj objekata, došao do rezultata da je otvor u septumu vrlo rijedak i da dolazi u manje nego u 1%. I za te slučajeve nije siguran da li im nije uzrok neki patološki proces. WITT je također došao do sličnog rezultata. On je na 56 lobanja s mekim dijelovima i 83 macerirane lobanje našao u prvoj grupi jedan slučaj s otvorom u septumu za koji smatra da nije prouzročen patološkim procesom, iako spominje da je postojala neka ekostoza.

Najbolje je te odnose dosad prikazao S. JOVANOVIĆ. On ispravno strogo luči dehiscencije (kojih je našao 2%) od pravih otvora te veli: »Naši nalazi slažu se sa navodima WITTA. Na materijalu od 300 lobanja otvor na pregradi našli smo u 3 slučaja (tj. u 1%). Ovi otvori na septumu obično su okruglog oblika, prečnika 2-3 mm i nalaze se najčešće u gornjem, istanjenom delu pregrade. Primeri perforacije pregrada na našem materijalu

bili su svakako kongenitalnog porekla, pošto u šupljini sinusa nije bilo patoloških promena. U visini otvora na pregradi dva susjedna sinusa su odvojena međusobno samo sa svojim sluznicama koje se dodiruju.«

TESTUT-LATARJET navode da u pregradi frontalnih sinusa može postojati otvor kojim komuniciraju dva sinusa. TESTUT-JACOB vele to isto; oni donose štaviše i sliku na kojoj se vidi da dva sinusa komuniciraju, ali je to prikazano tako da se sam otvor ipak ne vidi. Preparat je naime naslikan u pogledu odozgo te se vidi kako provučena sonda prolazi kroz septum iz jednog sinusa u drugi, ali pri tom sam komunikacioni otvor nije vidljiv te ne možemo otuda ništa zaključiti o tom kakav je on u stvari bio.

STUFKA je jedini autor koji je donio sliku komunikacionog otvora između dva frontalna sinusa na kojoj se taj otvor zbilja i vidi. To je maleni otvor sa promjerom od 2 : 1 mm, naslikan po neobjavljenom preparatu od G. RITTERA. Doduše ni to nije pravi komunikacioni otvor između desnog i lijevog čeonog sinusa. U tom slučaju postojala su na lijevoj strani dva lijeva čeonina sinusa, i to pravi lijevi čeonni sinus i osim toga još jedan manji akcesorni sinus, koji je izrastao iz jedne peribularne ćelije. U pregradi dakle između ta dva lijeva sinusa nalazi se spomenuti sitni otvor.

#### NAŠI NALAZI KOMUNIKACIONIH OTVORA IZMEĐU DESNOG I LIJEVOG ČEONOG SINUSA

Na pretraženih 600 lubanja našli smo komunikacioni otvor u septumu čeonih sinusa u 16 slučajeva. To bi značilo u 2,7% od svih pregledanih objekata. Međutim, za svrhu za koju mi to ovdje istražujemo, ti nalazi nijesu svi iste vrijednosti. Prikazat ćemo ih ukratko.

Sl. 8 prikazuje septum između čeonih sinusa, gledan s lijeve strane, na lubanji muškarca od 60 god. U septumu se vidi velik ovalan otvor s promjerom 7 : 4 mm, kome je dulji promjer upravljen vertikalno. Rub mu je sprijeda dosta deo i kvrgav. I stražnji je rub otvora kod gledanja pod lupom neravan i kvrgav. I okolica otvora, i to kako sprijeda, tako i sprijeda gore i sprijeda dolje, izrazito je valovita i kvrgava, što daje pomišljati da se tu radilo o nekom patološkom procesu. Ipak treba spomenuti da ostali zidovi lijevog sinusa kao i desni sinus ne pokazuju nikakvih patoloških promjena.

Na sl. 9 vidi se septum između čeonih sinusa, gledan s desne strane, na lubanji muškarca od 56 god. U septumu je ovalan otvor vertikalno izdužen s promjerima od 4 : 3 mm. Rub mu je pravilan i potpuno gladak. Iza toga otvora je još jedan sasvim sitan otvor ne veći od 1 : 1/2 mm, ali pravilna glatka ruba. Zid sinusa, iako nije naročito gladak, ne pokazuje jasne znake kakvog prošlog patološkog procesa.

Sl. 10 prikazuje septum između frontalnih sinusa muškarca od 54 god. Septum je snimljen s desne strane. U njemu se vidi velik otvor s promjerima 9 : 7 mm. Međutim, to što se na slici vidi kao otvor, nije ipak jedna cjelina; to nije sve komunikacioni otvor. Čitava gornja polovica ruba toga

prividnog otvora samo je naime donji kraj jednog semiseptuma koji se spušta odozgo s konkavnim slobodnim rubom koji je upravljen prema dolje. Pravi septum je na tom objektu naročito graden. Sve do donjeg ruba na slici vidljivog otvora on se upravlja prema gore. Tu se naglo savija na lijevu stranu te postaje gotovo horizontalan. I tek u početnom dijelu te njegove horizontalne partije nalazi se pravi komunikacioni otvor koji je ovalnog oblika i ima promjer 10 : 7 mm. Zid je sinusa ravan i ima normalan izgled.

U vezi s tim nalazom potrebno je ipak spomenuti da taj objekt i na drugim mjestima pokazuje tendenciju prema uzuriranju tankih koštanih zidova. Navodimo kao primjer da dno udubine impressio carotica pokazuje otvor s promjerom 4 : 3 mm, koji kad ga gledamo pod lupom ima savršeno glatke rubove, što znači da nije artefakt, nego da je nastao za života. Vodi u sfenoidni sinus i odgovara ZUCKERKANDLOVIM opažanjima. Uzurirana je, dalje, i vertikalna ploča palatinuma u donjem dijelu ondje gdje omeđuje canalis pterygopalatinus; zatim perpendikularna ploča vomera i maxilla ondje gdje premošćuje infraorbitalni kanal; isto tako i suzna kost i lamina papyracea, a rubovi su svih tih defekata savršeno glatki.

Na objektu koji prikazuje sl. 11 ima u septumu gotovo okrugao otvor s promjerom od 10 mm. Septum je ekstremno tanak, kao papir od cigarete. Objekt potječe od muškarca od cca 60 god. Nema znakova upalnog procesa. Pada u oči neobična širina sfenoparijetalnog sinusa (8 mm).

Sl. 12 pokazuje objekt koji potječe od 43-godišnjeg muškarca. U septumu koji se vidi u pogledu s lijeve strane vidljiva su 3 otvora, smještena koso jedan iznad drugoga. Najdonji je najveći, ovalan je i širok 6 : 5 mm; srednji je manji i okrugao, 3 mm širok, a gornji je najmanji i ima samo 2 mm u promjeru. Rubovi su im sasvim glatki i tanki, dok je sam septum nešto jači. Pada jako u oči da površina septuma kao i ostaloga zida sinusa nije ravna i glatka kao obično, nego je neravna i pokazuje kvrgava izbočenja, a između njih udubine, što pokazuje da je u ovom sinusu nekad bio duže vremena neki upalni proces.

Na sl. 13 prikazan je preparat od 65-godišnjeg muškarca. U septumu prilično dobro razvijenih čeonih sinusa vidi se 3 mm iznad razine nazofrontalnog šva okrugao otvor koji nije širi od 1 mm. Rub mu je ravan. Unaokolo se vidi više (10) sitnijih otvora za krvne žile. Zid je sinusa neravan sa kvrgama i udubinama. Vjerojatno je postojao upalni proces. Za otvor ne možemo sigurno reći da li i on ne potječe od neke veće krvne žile.

Sl. 14 ima karakteristično to da tu postoji pored desnog i lijevog još i jedan srednji čeonni sinus izrastao iz desnog etmoida. U pregradi između dva prava čeonna sinusa vidi se, budući da je ona nagnuta na desnu stranu, jedan gotovo vodoravno smješten ovalan otvor s promjerima 4 : 3 mm. Rub je otvora gladak. Zid je sinusa u donjem dijelu neravan. Objekt potječe od 61-godišnjeg muškarca.

Sl. 15 predstavlja preparat od 72-godišnjeg muškarca. U septumu nalazi se gotovo okrugao komunikacioni otvor s promjerom od 2 1/2 mm. Rub mu je gladak. Površina sinusa nije izrazito neravan.

Na preparatu koji prikazuje sl. 16 i koji potječe od 63-godišnjeg muškarca vidi se u pregradi otvor nepravilno ovalnog oblika i glatka ruba. U zidu sinusa primjećuju se izbočenja i osetofiti.

Sl. 17. Preparat je od 46-godišnjeg muškarca. Frontalni septum je u donjem dijelu neobično tanak, gotovo kao papir od cigarete, i u njemu se vidi okrugao 4 mm širok otvor kome je glatki rub djelomično oštećen.

Sl. 18. Preparat je od 38-godišnjeg muškarca. Septum je kao i na prethodnom objektu vanredno tanak, kao papir od cigarete. U njemu je vidljiv ovalan otvor, 4 : 3 mm širok, glatka vrlo tanka ruba, koji je u gornjem dijelu oštećen. Zid sinusa nema sasvim normalan izgled.

Sl. 19 prikazuje preparat naročite građe. Potječe od 43-godišnjeg muškarca. U septumu koji ide najprije vertikalno, a onda se zakrivljuje na desnu stranu, nalazi se polukružan otvor tanka i glatka ruba. U obadva sinusa izbočuju se po jedna frontalna bula. Lijeva je srasla sa septumom (NIKOLIĆ) i kroza nj komunicira s desnim sinusom pomoću šest sitnih otvora s promjerom od cca 1 mm. To se vidi na sl. 19, koja pokazuje objekt gledan s lijeve strane. Da li ti sitni otvori nijesu za života bili prekriveni sluznicom, a jesu po svoj prilici, to sad na tom maceriranom objektu ne možemo više sigurno znati. Taj isti preparat gledan s desne strane (sl. 20) pokazuje desnu frontalnu bulu uvaljenu u desni sinus. Ona osim svoje glavne komunikacije s nosnom šupljinom, koja se nalazi na njenoj donjoj strani, ima u svom zidu, koji je vanredno tanak, veliki broj dehiscencija (cca 20 većih i veliki broj manjih) u obliku okruglih ili ovalnih otvora kojima ona komunicira s desnim čeonim sinusom.

Napokon ćemo prikazati jedan nalaz s osobito velikim komunikacionim otvorom (sl. 21). On potječe od žene od 41 god. Otvor je ovalan s dužim okomitim promjerom koji iznosi 12 mm i kraćim horizontalnim od 8 mm. Rub otvora je gladak. Zid je sinusa ravan i gladak i ne pokazuje nikakvih patoloških znakova. Čeoni su sinusi osobito dobro razvijeni i ulaze daleko među frontalnu i cerebralnu ploču kao i između orbitalne i cerebralne lamele krova očne duplje.

To su dakle svi naši nalazi otvora u čeonom septumu koje smo mogli ustanoviti na pretraženih 600 objekata. Ima ih u svemu 16. Čisto statistički računajući to bi iznosilo 2.5% (2.66%). Međutim, za rješavanje pitanja oko koga mi ovdje nastojimo tim nam nije mnogo pomoženo.

Ako te nalaze međusobno uporedimo, naći ćemo da svi oni nijesu jednake vrijednosti. Kod nekih padaju u oči neravnosti zida, kvрге i udubljenja, što odudara od normalnoga izgleda sinusnoga zida te daje razloga da se pomislija da je tu nekad postojao upalni proces koji je možda do toga otvora doveo (sl. 8, 12, 13). Za prosuđivanje da li se tu radi o izuzecima od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA takvi objekti ne mogu biti sigurni dokazi, budući da se ne može s potpunom sigurnošću isključiti nijesu li oni nastali u vezi s takvim patološkim procesom. Na takvu su mogućnost već pomislijali kako BÖGE, tako i WITT, a u novije dobi i S. JOVANOVIĆ.

Nalazi prikazani na slikama 11, 17 i 18 pokazuju septum toliko ekstremno stanjen da nije mnogo deblji nego papir od cigarete, što se vidi i po tom da je na sva ta tri objekta, kraj sve naše pažnje, rub otvora oštećen. To na svaki način nije normalan izgled septuma između čeonih sinusa. Držim da ni te slučajeve ne smijemo prihvatiti kao potpuno siguran dokaz u naprijed spomenutom smislu.

Kod nalaza prikazanog na sl. 10, a koji na prvi pogled izgleda veoma uvjerljiv, treba imati u vidu da specijalno ta lubanja pokazuje izrazitu tendenciju da se resorbiraju koštani zidovi i na drugim mjestima, pa i takvim koji sa procesom pneumatizacije nemaju nikakve veze, npr. u gornjem zidu infraorbitalnoga kanala, kako je to navedeno kod njegova opisa.

Ipak nema dvojbe da postoje slučajevi gdje nastaju komunikacioni otvori između desnog i lijevog čeonog sinusa, a da zidovi sinusa ne pokazuju nikakvih nepravilnosti. O tom već govore WITT i kasnije S. JOVANOVIĆ. Kod nas je to slučaj na preostalih 9 objekata, što predstavlja 1,5% od svih pretraženih lubanja, što se prilično dobro slaže s nalazima BÜGEA, WITTA i S. JOVANOVIĆA.

Treba sada još pogledati da li i tih 1,5% nalaza odgovara potpuno naprijed navedenim zahtjevima da se takvi nalazi smiju priznati kao potpuno sigurni dokazi da su to izuzeci od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA.

Međutim, stopostotni dokazi za to ni oni nijesu. Mi smo naprijed naveli da mislimo da se ima smatrati kao jedan od uvjeta da se neki otvor u septumu shvati kao izuzetak od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA to što je on nastao u ono doba kad se normalno obavlja pneumatizacioni proces.

Međutim, ni za jedan od gornjih objekata mi to ne možemo tvrditi, jer oni potječu od mnogo starijih individua. Njihove su godine života: 72, 43, 40, 63, 76, 64, 62, 56 i 41 god., dakle jako iznad one dobi kad se obavlja normalna pneumatizacija. Moglo bi biti doduše da su ti komunikacioni otvori nastali u mladosti u doba normalne pneumatizacije do završetka rasta. Međutim, na ovim objektima od ljudi iz bitno starijih godina života mi to ničim više ne možemo ustanoviti niti u pozitivnom niti u negativnom smislu, a mislimo da bi baš to bilo osobito važno znati.

Dok ovdje nastojimo pronaći prave uzroke jednog čudnog pravila, mi moramo gledati da kod našeg istraživanja imamo prilike što je moguće čistije, kao kod kakvog fizikalnog ili kemijskog eksperimenta. Treba svakako nastojati da te prilike ne budu zamućene ni zakomplikovane nikakvim akcesornim patološkim ili staračkim procesom. Zato smo i smatrali potrebnim postaviti gornji uvjet, koji, kako vidimo, od svih ovih objekata nijedan ne zadovoljava.

Samo kod jednog objekta, onog prikazanog na sl. 5, a koji se doduše ne tiče frontalnog nego sfenoidnog sinusa, mogli smo učiniti vrlo vjerovatnim da je otvor nastao u mladosti, u doba razvitka sfenoidnog sinusa, ali je nalaz komplikovan upalnim procesom, tako da nam ni taj slučaj nije od koristi.

Moglo bi nam se možda prigovoriti da nismo našli nijedan slučaj iz mlade životne dobi na kom bi bio vidljiv komunikacioni otvor iz toga razloga što smo imali mogućnosti da istražujemo samo objekte od starijih ljudi. I sami smo već od početka na to pomišljali te smo stoga u našim statističkim tablicama kod svakog objekta tačno naveli i spol i životnu dob, tako da se i u tom pogledu može dobiti dovoljno jasan pregled.

Ako dakle između svih pretraženih 600 objekata, koji doduše potječu većinom od starijih ljudi, izaberemo samo one koji potječu od ljudi do 30. godine, to dobivamo ipak prilično velik broj. Taj broj iznosi 124 objekta. Značajno je da ni na jednom od ta 124 objekta iz mlade dobi nijesmo našli komunikacioni otvor u septumu čeonih sinusa.

K tome dolazi još ovo. U mojoj zbirci rastavljenih kompletnih čovječijih lubanja, koju sam sabirao u toku više decenija i koja sadržava blizu 300 objekata i obuhvata sve stadije, počevši od dužine od 56 mm, tjeme – zadak, pa do novorođenčeta i zatim od novorođenčeta pa do 28. godine života, nalazi se i niz objekata iz životne dobi koja nas ovdje interesira. Tih kompletnih rastavljenih lubanja iz životne dobi, počevši od 10 pa do 28 godine, ima 54 serije.

Na tim objektima mogao sam kroz aperturu frontalnih sinusa pomoću suptilnih optičkih uređaja, koje zahvaljujem predstojniku ovdašnje Otorinolaringološke klinike prof. B. Gušiću, tačno pregledati septum. Rezultat je bio taj da ni na jednom od tih preparata nijesam našao komunikacioni otvor u septumu.

Ta 54 objekta i prije spomenuta 124 od po sredini raspiljenih lubanja daju skupa broj od 178 lubanja iz mlade životne dobi. *Držim da je vrlo značajno da ni na jednom od tih 178 objekata nijesmo našli da bi septum bio probušen.*

Rezultat naših istraživanja septuma između čeonih sinusa je dakle ovaj. Postoji razlika između toga septuma i septuma u sfenoidu. U septumu između sfenoidnih sinusa našli smo tri slučaja sa staračkom dehiscencijom, jedan s izrazitim znacima upalnog procesa i jedan sumnjiv na upalni proces. Čist komunikacioni otvor u sasvim normalnom septumu nijesmo našli ni u jednom slučaju kod 600 pretraženih objekata.

U čeonom septumu to je ipak nešto drukčije. Tu smo našli 16 slučajeva s otvorom u septumu. Gotovo polovica od tih pokazivali su znakove upale ili druge nepravilnosti. Preostalih devet otvora bilo je u prilično normalnom septumu. Ali i tih devet je pripadalo isključivo ljudima iz kasnije životne dobi, počevši od 40. pa do 76. godine. Posmatrajući te objekte, mi ne možemo doduše sigurno znati kad su ti otvori nastali ali ipak možemo o tom zaključivati s priličnom vjerojatnošću.

Kako je naprijed navedeno, mi smo osim objekata od starijih ljudi imali na raspolaganju također i 178 objekata od ljudi iz mlade životne dobi ispod 30 godina, dakle iz dobi kad se događa pneumatizacioni proces, ili nešto iznad te dobi, da budemo široke ruke. Prema našoj gore navedenoj statistici, prema kojoj otvor u frontalnom septumu dolazi u 1,5% slučajeva

va, mi bismo na 178 objekata trebali očekivati da ćemo naći 2 – 3 slučaja s komunikacionim otvorom u septumu. Međutim mi nijesmo našli ni jedan jedini s takvim otvorom.

Iako to ne možemo tvrditi s apsolutnom sigurnošću, mi ipak mislimo da možemo iz toga zaključiti s priličnom vjerojatnošću *da spomenuti komunikacioni otvori u septumu ne nastaju u doba kad se vrši normalni pneumatizacijski proces; drugim riječima da oni nijesu rezultat normalne pneumatizacije, nego da nastaju kasnije, nekim možda sličnim, ali ipak u biti svojoj drugim mehanizmom.*

Naprijed opisana istraživanja izvršili smo nastojeći da utvrdimo da li se mogu naći sigurni dokazi za to da postoje izuzeci od CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA. Na 600 pretraženih objekata mi takav sasvim siguran dokaz nijesmo mogli naći. To svakako pokazuje da se to pravilo održava s velikom postojanošću, s postojanošću koja ga približava prirodnom zakonu.

Pa i kad bi se, kod istraživanja još većeg materijala nego što je naš, i našao takav izuzetak, štaviše i kad bi onih 1,5% koje smo naprijed opisali i bili pravi izuzeci, to ipak ne bi mnogo mijenjalo na stvari; ono pravilo bilo bi i tada jedna velika zagonetka. Treba samo imati pred očima ovo: Pretraživati 100 objekata i na 98% od njih naći kako se samo ona tanana lamela, septum, dosljedno održava, dok sva kost unaokolo bude resorbirana, to je uistinu nešto što začudnje.

Mora svakako da postoji neki važan razlog za to da se to pravilo održava s takvom gvozdеноm dosljednošću.

Mi smo se najprije bolje upoznali s njim istražujući 120 slučajeva parcijalnih septuma u maksimalnom sinusu, gdje se ispostavilo da su oni svi bili neposredna posljedica baš toga pravila. Međutim, u literaturi tom se pravilu poklanja premala pažnja. Ono nema ni posebnog imena, te smo ga stoga mi označili nazivom koji ovdje upotrebljavamo i koji mislim da je prikladan. CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO nije neka sporedna stvar, nego je to jedno važno pravilo, koje je na poslu u glavi svakog čovjeka, i to na mnogo mjesta. Da nije njega, grada čovječje lubanje imala bi drugaciji izgled.

Stoga smo smatrali potrebnim da bar pokušamo potražiti neko logično tumačenje za nj, neko razjašnjenje u čemu je njegova bit. Kako je u uvodu rečeno, mi mislimo da se može naći neko prihvatljivo razjašnjenje toga pravila i da je to razjašnjenje u najužoj vezi s pravim razumijevanjem svega onoga što se kod pneumatizacije paranazalnih prostora događa, a što do sada nije u dovoljnoj mjeri naglašeno.

## PNEUMATIZACIJSKI STROJ

Potrebno je dakle najprije tačno upoznati šta se sve zbiva prilikom pneumatizacije pobočnih prostora nosne šupljine. Ima više teorija o pneumatizaciji (WITTMACK, MOURET, ALBRECHT, RÜEDI, SCHWARZ, DOHLMANN, ECKERT-MÖBIUS, SITSSEN, BERNFELD, KRAINZ, i dr.), ali mi se ovdje

nećemo u to pobliže upuštati. Spomenut ćemo samo da veliki broj autora smatra da sluznica resorbira spongioznu supstanciju time što urasta u spongioznu kost.

Takvo shvatanje međutim ne može biti ispravno. Pravo biološko zbivanje mislim da je najbolje formulirao GUŠIĆ, koji veli da je pneumatizacija i paranazalnih sinusa posljedica inaktivizacija nekih koštanih areala zbog prenošenja potporne funkcije na drugo mjesto. On veli dalje da se mezenhimalna osnova sluznice kavuma širi postepeno u te funkcionalno inaktivne prostore, podupirući i sama osteoklastične procese. Prema tome prva inicijativa za pneumatizaciju ne dolazi od sluznice, nego od onog što ima biti resorbirano, dakle od spongioze. To je osobito važna konstatacija.

Uzet ćemo kao primjer trup sfenoida, kojega je razvitak pored TOLDTA, COPEA, CONGDONA i dr. osobito pomno VAN GILSE obradio i gdje su ti procesi najočigledniji i najlakše se daju prikazati.

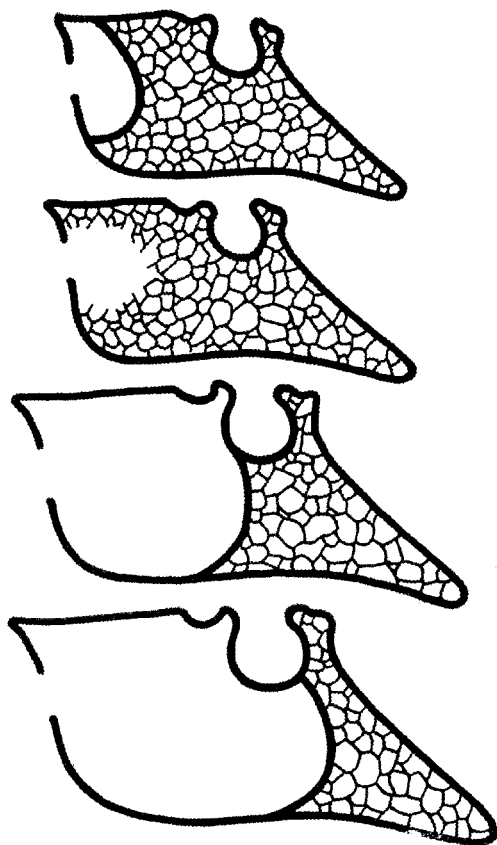
Trup sfenoida je ispočetka, osim tanke kompaktne kore na površini, sav građen od spongiozne koštane supstancije. Kada iz njehuraste Bertinove kosti, tj. iz sfenoidnog paleosinusa, počne urastati sluznica u trup sfenoida, to se događa na jedan osobiti način, na što je već VAN GILSE upozorio. Iako sluznica dovodi spongioznu supstanciju do resorpcije, kad mi maceriramo takav sinus koji je u nastajanju, u razvitku, vidjet ćemo da ono mjesto gdje je sluznica započela urastati i gdje je već nešto malo urasla nema površinu građenu od spongioze, nego je površina upravo na tom mjestu uvijek glatka i kompaktna.

Nad tom osobitom činjenicom treba se zamisliti.

Kad bi pneumatizacija naime išla tako da sluznica, kao što se to obično kaže, resorbira kost, onda bi, kako se sve više i više od spongiozne supstancije resorbira, površina tako nastale šupljine morala biti hrapava i građena od samih načelih gredica spongiozne supstancije. Kod nastajanja sfenoidnog sinusa takav bi hrapav morao biti njegov zid sve dok šupljina ne bi dosegla kompaktnu koru nekeje površine trupa. Ta kora bude uistinu napokon i dosegnuta naprijed, gore, dolje i sa strane (zasad septum ispuštamo iz vida). Na potpuno razvijenom sinusu tu bi najzad površina njegova postala glatka i građena od kompaktne koštane ploče. Međutim u smjeru prema nazad sfenoidni sinus nikad ne dosegne do kompaktne kore. *Ipak ni tamo zid nije spongiozan ni hrapav, nego je potpuno gladak i obložen tankim slojem kompaktne koštane supstancije.* (Shema 1 i Slika 21).

Iz te činjenice što u toku razvitka sinusa nastala šupljina nikad nije omedena direktno spongiozom, nego je uvijek obložena tankim slojem kompaktne supstancije, moramo zaključiti *da sluznica za vrijeme razvitka sinusa nikada ne dodiruje direktno spongioznu supstanciju.*

Nikada dakle ne biva spongiozna supstancija direktno resorbirana o l strane sluznice sinusa. Između spongiozne supstancije, koja će ipak biti na neki način dovedena do iščezavanja, i sluznice, koja tu resorpciju na neki način izvršuje, nalazi se uvijek jedan sloj kompaktne koštane supstancije, jedna kompaktna koštana ploča. Sluznica samo tu kompaktnu



Shema 1.

Prikazuje pojedine stadije kod razvitka sfenoidnog sinusa. U svakom stadiju se vidi na granici između sluznice i spongioze tanki štit od kompaktne koštane supstancije, koji ih odjeljuje tako da sluznica nikad ne dodiruje direktno spongiozu. Na drugoj slici odozgo prikazan je hipotetski slučaj koji bi nastao kad ne bi bilo apozicijskog procesa na kompaktnom štitu.

ploču direktno dodiruje, a nikada nepo-redno spongiozu. Kod procesa resorpcije može dakle biti resorbirana od strane sluznice samo ta koštana kompaktna ploča, a ne spongioza. Na ovoj strani te koštane ploče koja je okrenuta prema sluznici sinusa mora da su u djelovanju osteoklasti, koji tu ploču s te strane malo po malo otapaju (Sl. 23). Te je osteoklaste primijetio VAN CILSE i prikazao ih u svojoj radnji na sl. 35b; on veli da prodiru također i subepitelijalni izdanci sluznice u kost kao i da dolazi i bez sudjelovanja osteoklasta do destrukcije kosti u jednoj nepravilnoj liniji.

Kad bi se čitav proces pneumatizacije samo u tome sastojao, ta bi ploča za neko vrijeme bila resorbirana čitavom debljinom te bi je tako ubrzo potpuno nestalo. Pojavila bi se ispod sluznice slobodna gola hrpava spongiozna supstancija s načetim koštanim gredicama. Nastala bi dakle naša hipotetska forma »b« (Schema 1. druga slika).

To se međutim ne događa nikada.

Ipak proces otapanja te ploče s njene prednje strane ispod sluznice obavlja se nesumnjivo, što vidimo po tom da u sfenoidnom sinusu od početka njegova razvitka pa dok se on potpuno razvije stražnji zid njegove sluznice učini prema nazad put često od 3 cm i više. Pa ipak ona kompaktna ploča koja odjeljuje sluznicu od spongioze na čitavom tom putu nikada ne iščezne. Koji god stadij razvitka sinusa istraživali, uvijek vidimo ploču razvijenu; na kome god mjestu trupa sfenoidne kosti bila u danom momentu prednja granica spongioze, uvijek je vidimo sprijeđa pokrivenu pločom kompaktne supstancije, kao nekim štitom.

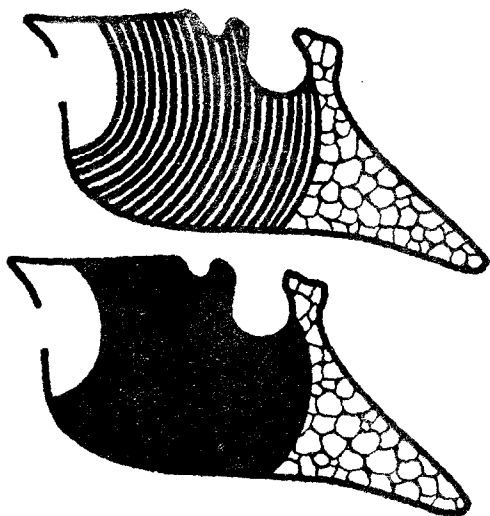
Dakle, ako je kompaktna ploča uvijek održana, a ona se neprestano otapa, resorbira, s njene prednje strane, to iz toga moramo zaključiti da se ta ista ploča na svojoj stražnjoj strani, onoj koja je okrenuta prema spongiozi, neprestano ponovo stvara. A budući da debljina ploče ostaje približno podjednaka, to znači da se ona na svojoj stražnjoj strani apozicijom koštane supstancije neprestano ponovo stvara u onoj istoj mjeri u kojoj bude resorbirana na prednjoj strani.

*Proces pneumatizacije obavlja se dakle u oblasti te koštane ploče i on se sastoji od dva oprečna zbivanja, koja se događaju istodobno i idu u korak jedno s drugim. Pneumatizacija nije dakle samo proces razaranja koštane supstancije, nego je to i proces stvaranja u istoj mjeri. Jedan uslovljuje drugi. Kad ne bi bilo stvaranja sve nove i nove kompaktne koštane supstancije, ne bi se mogla ni resorpcija obavljati, jer ta može da napada samo kompaktnu koštanu masu, a te ne bi bilo.*

Ako predočimo sebi čitav taj proces od početka pa do završetka pneumatizacije, moramo doći do zaključka da se čitava ona oblast trupa sfenoidne kosti koja bude pneumatizovana, a koja je prvobitno sva spongiozna, u toku vremena sva pretvara u solidnu kompaktnu supstanciju. Čitava se ta oblast tako reći sklerozira.

Kad bismo sve one ploče koje se formiraju u toku pneumatizacije stavili jednu uz drugu, one bi popunile čitav ili gotovo čitav trup sfenoida (Schema 2, gornja slika). Ovakove pretpostavke, iako su same po sebi irealne, ipak su veoma poučne, jer nam zorno dovode pred oči značenje

nekog zbijanja. Ili uzmimo drugu jednu pretpostavku koja je isto tako irealna, ali je isto tako poučna. Rekli smo da se pneumatizacijski proces sastoji od dva oprečna procesa, jednog produktivnog i drugog destruktivnog, i da se oni događaju istodobno, a da se ne može obavljati jedan bez drugoga. Ali ipak, usprkos svemu, pretpostavimo sebi na čas da su ti procesi disociirani, da se jedan obavlja bez drugoga, i to da se obavlja samo produktivni proces, a da destruktivni prestane. Šta bi se dogodilo tad? Koštana ploča koja odjeljuje spongiozu od sluznice ne bi se otapala na prednjoj strani, dok bi na njenoj stražnjoj, prema spongiozi okrenutoj strani, osteoblasti stvarali na njoj sve nove i nove slojeve kompaktne koštane supstancije. To znači, ploča bi postajala sve deblja i deblja, i to u pravcu prema nazad, tako da bi od prvobitno tanke kompaktne koštane pločice nastala napokon debela solidna kompaktna koštana masa koja bi potpuno ispunila sav onaj dio trupa sfenoida koji normalno zauzima sinus.



Shema 2.

Prikazuje dva hipotetska slučaja koji jasno ilustriraju kolika se ogromna masa kompaktne kosti stvara u toku pneumatizacije. Gornja slika prikazuje kolika množina sve novih kompaktnih štitova kod toga nastaje. Na drugoj slici se vidi šta bi nastalo kad bi prestao resorpcioni, a nastavio se samo apozicioni proces pneumatizacijskog stroja. Sav bi se trup sfenoida ispunio kompaktnom koštanom masom.

Tako nam dakle, kad ovu pretpostavku domislamo do kraja, dolazi zorno do svijesti kakvo veliko značenje ima produktivni dio procesa kod pneumatizacije (Shema 2, donja slika).

Ali se naravno, kako nam presjeci svih razvojnih stadija u toku nastajanja sfenoidnog sinusa pokazuju, on ne obavlja nikada sam za sebe, nego uvijek samo u vezi s obratnim procesom, s procesom resorpcije. I zbog toga kompaktni štiti, koji odjeljuje spongiozu od sluznice, iako se stalno pomiče prema nazad, ne postaje deblji, nego zadržava svoju karakterističnu malu debljinu.

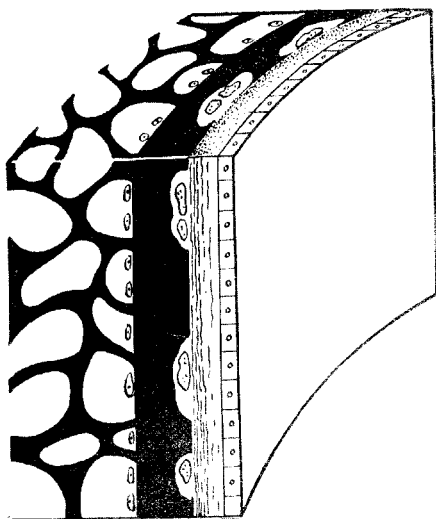
Pokušajmo sada predstaviti sebi pojedine slojeve u oblasti one zone gdje se događa pneumatizacija. To su slijedeći slojevi, koji su šemski prikazani na Shemi 3.

1. Najprije prema šupljini sinusa naći ćemo sluznicu sinusa pokrivenu epitelom. Ona pokazuje u toku procesa pneumatizacije veoma različitu debljinu. U početku razvitka sinusa ona je debela, poslije, kako se volumen sinusa povećava, ona postaje tanja, a na završetku razvoja je sasvim tanka. Smatra se da njezina masa za čitavo to vrijeme u stvari ostaje ista, samo se, kako se površina sinusa povećava, njena visina smanjuje. Mogućnost njena širenja bi prema tom već od početka pneumatizacije bila određena.

Ovdje je važno navesti šta o tom misli VAN GILSE, dosada najuspješniji istraživač sfenoidnog sinusa i njegova razvitka. On veli slijedeće: »Sluznica koja ima aktivnu biološku funkciju resorpcije posjeduje visoko subepitelijalno tkivo sa dobro razvijenim krvnim i limfnim žilama. Kost koja je prikladna za resorpciju mora biti lamelarna kompaktna kost, koju na onoj strani koja je okrenuta od sluznice ograničava spongiozna supstancija. Da ti uvjeti postoje, mora se zaključiti otuda što svuda ondje gdje ti uvjeti nijesu ispunjeni ne postoji resorpcija kosti. Može se uzeti da između sluznice i onoga tkiva koje priliježe uz drugu stranu kosti postoji neki međusobni odnos, tako da sluznica reagira na stanje odnosno na vrstu toga tkiva. Možda je taj međusobni odnos posljedica toga što ishrana sluznice ovisi također od kosti. Kod sluznice koja vrši pneumatizaciju vide se prilično mnogobrojni spojevi krvnih žila između sluznice i spongioze, koje prolaze kroz prilično tanki sloj kompaktne kosti. Ali ako na drugoj strani kompakte ne leži spongiozna kost, nego meki dijelovi (živac, krvna žila, dura, sluznica), ili hrskavica, ili deblji sloj kompaktne sklerotične kosti, tada se ne vide spojevi perforirajućih krvnih žila, ili ih je mnogo manje, i tad će biti smanjena ishrana sluznice. Resorpcija se stoga ne može vršiti ili se vrši slabije, pneumatizacioni proces je ustavljan. Uostalom mi možemo sebi zamišljati da uzrok za ustavljanje procesa leži 1. u skeletu koji na bilo koji način postane manje sposoban za resorpciju i 2. u sluznici koja na bilo koji način izgubi sposobnost resorpcije«.

Kao što se vidi, VAN GILSE prikazuje te odnose vrlo precizno, ali kod ustavljanja pneumatizacije pridaje glavnu važnost umanjenoj ishrani. To ne može biti tačno, bar ne za sve slučajeve, za što možemo navesti ubjed-

ljive dokaz. Kod linearne zapreke prouzročene tračkom vezivnog tkiva ili krvnom žilicom, zbog čega nastaju tako često pločasta parcijalna septa, ne može biti govora o umanjenoj ishrani kad je svud unaokolo spongioza koja je krvlju dobro snabdjevena. Isto se tako ni kod tačkaste zapreke, uslijed čega nastaju šiljasti izdanci poput trna, spine, ne može raditi o oslabljenoj ishrani dotičnoga mjesta, jer se svud unaokolo, ovdje doslovno svud unaokolo, nalazi krvlju dobro snabdjevena spongioza. Iz gornjega navoda vidi se također da su prilikom ustavljanja pneumatskog procesa ništa ne govori o važnosti sinhronog djelovanja dvaju antagonističkih procesa, jednog produktivnog i drugog destruktivnog, na što mi ovdje polažemo baš osobitu važnost.



Shema 3.

Pneumatizacijski stroj shematski prikazan. Njegovi su slojevi (s desna na lijevo): sluznica sa submukozom i periošt s osteoklastima; kompaktni koštani štiti sa sinicijem koštanih stanica u unutrašnjosti i znacima resorpcije (Howshipove lakune sa osteoklastima) na jednoj (na shemi desnoj) i znacina apozicije na drugoj strani; endost s osteoklastima koji stvaraju novu kost i pojačavaju štiti; i napokon slijedi spongioza s koštanim grebicama i koštanom moždinom.

2. Idući prema nazad, prema prednjoj površini kompaktne koštane ploče, propria sluznice će se zgrusnuti i formirati zonu periosta koštane ploče. Tu se događa proces resorpcije (Shema 3 i Sl. 23). Kako je već naprijed spomenuto, VAN GILSE je u tom sloju opisao osteoklaste koji razaraju kost, smješteni u Howshipovim lakunama, zatim destrukciju kosti u nepravilnoj liniji bez osteoklasta kao i urastanje krvnim žilama dobro snabdjevenih tkivnih pupoljaka u kost da je razore.

3. Iza toga sloja slijedi razmjerno debela ploča kompaktne koštane supstancije koja kao neki štit leži između sluznice i spongioze (Shema 3 i Sl. 21, 22 i 23). Ovaj sloj kompakte toliko je konstantan i karakterističan kao omeđenje pneumatskog prostora da se npr. čeonni sinus može prepariranjem sasvim lijepo prikazati ako odstranimo spoljašnju kompaktnu čeonu kosti i opreznim prepariranjem odstranimo sve gređice spongiozne supstancije do kompaktne granice čeonog sinusa. Takvi impresivni preparati nalaze se u svakom boljem anatomskom muzeju te su i u atlasima prikazani, jer su to konstantni nalazi.

Posmatrajući taj koštani štit, treba imati na umu da kompaktna supstancija sadržava u sebi koštane stanice koje svojim mnogobrojnim tankim protoplazmatskim nastavcima stoje međusobno u vezi, tako da sve zajedno tvore jedan jedinstveni sincicium. Koštani štit dakle ne odjeljuje samo sluznicu od spongioze, nego ih i spaja.

4. Na stražnjoj prema spongiozi okrenutoj strani kompaktne ploče naći ćemo endost čije su stanice najdublje sloja poredane uz površinu kompaktne ploče kao osteoblasti i na njoj stvaraju nove slojeve kompaktne koštane supstancije, uzidući sebe u tu koštanu masu (Shema 3). VAN GILSE to prikazuje ovako: »Na onoj strani kompaktnog koštanog zida koji je okrenut od sluznice nalaze se znakovi apozicije: osteoidni slojevi, osteoblasti, osobito u uglovima između kompaktnijeg sloja i koštanih gređica koje od njega odlaze. Kod napredovanja resorpcije bude na taj način ispred pneumatizirajuće sluznice potiskivan kompaktni koštani zid na taj način što lamele novonastale kosti ispunjuju prostore između koštanih gređica.« Proces koji se tu u tom sloju događa mi smatramo da je za mehanizam pneumatizacije jedan od najvažnijih.

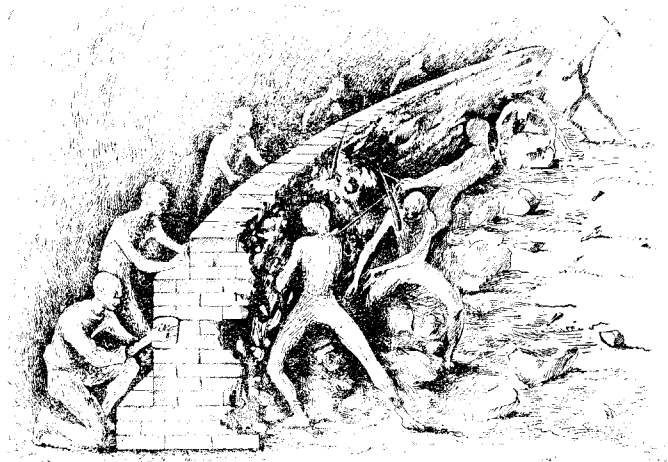
5. Iza toga dolazi najzad spongioza, s koštanim gređicama i tračcima koštane moždine koja sadržava mnoštvo krvnih žila (Shema 3 i Sl. 22 i 23).

Kao što vidimo, u oblasti koštanog štita između sluznice i spongioze postoji jedan tačno odmjereni uređaj u kom se sinhrono vrše dva antagonistična procesa, jedan proces stvaranja i drugi proces razaranja koštane supstancije (Shema 4). Taj uređaj funkcionira savršeno egzaktno, kao kakav fino izbalansirani aparat ili stroj. Mi ćemo ga nazvati imenom PNEUMATIZACIJSKI STROJ.

Dok taj stroj funkcionira, pneumatizacija napreduje. Čim jedan njegov dio bude eliminiran, stroj stane, pneumatizacija prestaje.

Koji je od ta dva procesa primaran, da li proces resorpcije koji se događa na prednjoj strani, ili proces apozicije koji se događa na stražnjoj strani koštanoga štita? Iako se oni događaju istodobno i u istoj mjeri,

držimo da je proces apozicije ipak primaran i da je on onaj koji to čitavo zbivanje vodi. To držimo iz ovih razloga. Kad bi najprije započela resorpcija, prije apozicije i prije formiranja koštanog štita, taj bi proces napao direktno spongioznu supstanciju i tad bi rezultirala ona forma pneumatske šupljine koja bi odgovarala našoj hipotetskoj formi »b« (v. Shema 1. druga slika). Međutim to se ne događa. Baš naprotiv, već i u najprvom stadiju pneumatskog procesa vidimo da je formiran kompaktni štit. Ako pratimo npr. prvi početak nastajanja sfenoidnog neosinusa, kad iz Bertinove mjehuraste kosti počne urastati sluznica prema spongioznom trupu sfenoida, naći ćemo kako na onom mjestu gdje je Bertinova kost na stražnjoj strani postala dehiscetna, odgovarajući tačno toj dehiscenciji nastaje mala sasvim plitka udubina, kao neka mala plitka plosnata lokvica u sfenoidu, i ta je udubina sasvim glatke površine (van Gilse). To znači da je već u tom stadiju formiran štit od kompaktne kosti. Ali ima još i jedan drugi uvjerljiv dokaz da je primaran proces stvaranja. O njemu će međutim kasnije biti riječ.



Shema 4.

Pneumatizacijski stroj pomoću jedne komparacije slikovito prikazan. Dvije ekipe radnika rade na jednom zidu tako da ga jedna grupa razara s jedne, a druga u istoj mjeri nadograđuje s druge strane. Zid se pomiče, ali ostaju uvijek iste debljine.

Pokušajmo stvoriti sebi neku predodžbu o tome što je ono što omogućuje to sinhrono obavljanje dvaju oprečnih procesa, jednog destruktivnog i drugog formativnog. Očito je da mora biti nešto što njima upravlja.

Mogli bismo predstaviti tu mogućnost da destruktivni proces koji se odvija na prednjoj strani koštanoga štita djeluje na formativni na stražnjoj njegovoj strani direktno kroz kost. Kompaktna koštana supstancija sadržava u sebi pravilno raspoređene koštane stanice koje, kao što je već naprijed spomenuto, mnogobrojnim protoplazmatskim nastavcima stoje u međusobnoj vezi, tako da čitav taj stanični sistem u kompaktnoj kosti tvori jednu jedinstvenu sincicijalnu cjelinu. Mogli bismo dakle sebi predstaviti da podražaj izveden procesom resorpcije na koštane stanice prednje strane bude putem te sincicijalne mreže prenesen kroz čitavu debljinu koštanoga štita do na koštane stanice odnosno osteoblaste njegove stražnje strane, koji tim budu potaknuti na stvaranje novih slojeva kompakte. To bi činilo shvatljivim i održavanje približno iste debljine koštanoga štita. Međutim važni razlozi govore protiv takvoga shvatanja, kao što ćemo vidjeti.

Ipak, budući da na drugim mjestima u tijelu, gdje su osteoklasti u funkciji, taj mehanizam rasta ne dolazi do izražaja, nama se čini više vjerojatnim, da glavnu regulaciju ovdje obavlja autonomni sistem sa svoja dva antagonistična dijela, simpatikusom i parasimpatikusom. Možemo sebi predstaviti da jedan od njih pospješuje razaranje, a drugi stvaranje koštane mase i da je čitav taj mehanizam reguliran centralno.

Najzad bi trebalo da sebi stvorimo neku predodžbu o tom šta je ono što čitav taj stroj stavlja u pokret. Procesu pneumatizacije podvrgavaju se one oblasti sfenoida, maksile, čone kosti, koje nemaju da vrše nikakvu mehaničku zadaću. Držim da bar za postfetalni život možemo reći da je ono što stavlja u pokret čitav taj pneumatizacijski stroj upravo to smanjkanje mehaničkog napora.

Na misao da prvi poriv za proces pneumatizacije mora da dolazi baš od onoga tkiva koje ina da bude eliminirano ja sam došao prije više godina posmatrajući neke zagonetne nalaze na koje sam naišao izrađujući svoju radnju o frontosfenoidnom izdanku gornje čeljusti. Kako je to već u uvodu spomenuto, našao sam tri naročita frontosfenoidna izdanka maksile koji su bili uloženi između sfenoidnog sinusa i stražnje etmoidne ćelije. Oni su bili u formi jedne u transversalnom pravcu široke, a u sagitalnom vrlo uske ploče, koja se protezala od očne duplje pa sve do sfenoetmoidnog zatona. Ta je ploča bila pneumatizirana. Ali ona nije dobila pneumatizaciju od maksile kojoj pripada, nego iz sfenoetmoidnog recessusa nosne šupljine.

Ulaz u nju bila je jedna sasvim uska, 6 mm visoka, a samo 2 mm široka pukotina u zidu sfenoetmoidnog recessusa, i budući da je šupljina zauzimala čitavu ploču, to je taj pločasti izdank izgledao kao plosnata tanka doza za cigarete. To je shemski prikazano na shemi 5.

Posmatrajući te objekte, mi smo imali impresiju kao da je sluznica na neki način osjećala da se tu u zid nosne šupljine uvalilo neko strano tijelo, pa je samo njega napadala i samo njega razarala ostavljajući sve drugo nedirnuto.

Nad tom čudnom činjenicom treba se zamisliti, jer će nam možda ona pomoći da upoznamo šta je kod pneumatizacije primarno, a šta sekundarno.

Predstavimo sebi dakle kako je ta regija izgledala prije početka pneumatizacije frontosfenoidnog izdanka.

Tu u lateralnom zidu recessusa tri su se kosti priključivale jedna uz drugu ravnim glatkim rubovima i činile jednu zajedničku ravnu glatku površinu, tj. ravni glatki zid sfenoidnog zatona. Ta je zajednička površina bila pokrivena sluznicom nosne šupljine slično kao parket sagom.

Nema nikakva razloga da ne smatramo da je ta sluznica bila jednaka iznad sva tri dijela zida toga recessusa. To je jednolična mitna nosna sluznica s kojom se ništa više neobično ne događa. I da ovdje nije bio izuzetno utisnut frontosfenoidni izdanak maksile, koga obično i nema i za koji se nije ni znalo da može postojati dok ga mi nijesmo nedavno opisali, ta bi sluznica ostala takva nepromijenjena do kraja života.

Nema dakle nikakvog opravdanog razloga da pretpostavimo da je od same sluznice mogao nastati prvi impuls za početak pneumatizacije.

Međutim, s druge strane onih triju tankih kompaktnih koštanih pločica koje su činile zid toga recessusa i koje su ležale ispod sluznice, bila je stvar sasvim drugačija (Shema 5). Tamo nije bio jednoličan pokrov na sve tri pločice, nego je to bilo strogo diferencirano.

Ispod stražnje pločice nalazila se šupljina sfenoidnog sinusa, a ispod prednje pločice šupljina stražnje etmoidne ćelije, obadvije obložene svojom sluznicom. Međutim ispod srednje pločice nalazilo se nešto sasvim drugo. Tu nije bila nikakva šupljina, nego je bio frontosfenoidni izdanak maksile sav ispunjen spongioznom supstancijom koja se vezala neposredno uz tu srednju pločicu (Shema 5).

Mora da je ona uska zona nosne sluznice, ispod koje je ležala ta spongioza od nje odijeljena samo tankom pločom kompaktne koštane supstancije, na neki način osjetila šta se ispod nje nalazi, pa se samo ona dala na pneumatizaciju.

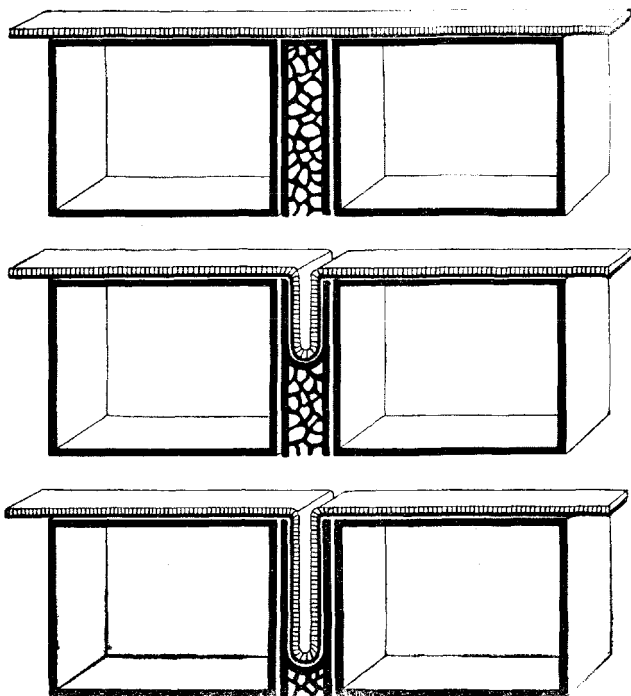
Kako je ona to mogla osjetiti?

Neka nam je dozvoljeno da upotrijebimo ovdje jednu, iako daleku, komparaciju. Ima jedna vrsta kukaca (*Rhyssa persuasoria* L.), koje mileći po stablu drveta na neki način osjete da ispod kore stabla u dubini ima ličinka druge neke vrste koju traže *Sirex gigas* L. (*Holzwespe*), te svojom dugom bodljom probodu koru, pogode ličinku i u nju odlože svoja jajašca. Mora da je ličinka iz dubine na neki način dala glasa od sebe te ju je napadač osjetio. Od nje je dakle, za njenu propast, potekao prvi podražaj.

I u ovoj zoni sluznice mora da je došao prvi podražaj iz dubine, od spongioze, one spongioze koja je bila baš određena za razaranja.

Kakve je vrste bio taj prvi podražaj, o tome ćemo moći dobiti predodžbu ako imamo u vidu ono što je naprijed rečeno o pneumatizacijskom stroju.

Na onoj strani koštane ploče naime, koja je okrenuta prema spongiozi, počeli su osteoblasti stvarati novu kost po svoj prilici potaknuti centralno. Podražaj od toga procesa prenosi se odmah preko koštanih stanica i



Shema 5.

Ekstremna selektivnost sluznice sfenoetmoidnog zatona kod pneumatizacije od nas opisanog izdanka *Processus frontosphenoides maxillae*. Tu sluznica ulazi u jedan samo 2mm široki procijep, što je prilično uvjerljiv dokaz da impuls za rad pneumatizacijskog stroja dolazi od spongioze, a ne od sluznice.

njihovih mnogobrojnih ogranaka u koštanoj ploči na drugu stranu te ploče, na stranu okrenutu sluznici, te je tim iniciran obratni destruktivni proces, proces resorpcije. To znači pneumatizacijski stroj stavljen je u pokret, kao kad se kakav motor stavi u pokret i on nastavlja rad dok se ne svrši posao, kao što se i u našem slučaju dogodilo.

Iz toga možemo s velikom vjerojatnošću zaključiti da je apozicioni dio toga procesa primaran, on je inicijator. Međutim, prvi impuls za nj dolazi po svoj prilici centralno.

#### KAUZALNO RAZJAŠNJENJE CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA

Da je ovo shvatanje o mehanizmu pneumatizacijskog procesa ispravno i da ono pogađa njegovu bit, čini vrlo vjerojatnim ta činjenica što na taj način možemo razumjeti u čemu se sastoji bit CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA.

Kad bi se naime kod pneumatizacije radilo o resorpciji koštane supstancije, ne bi bilo razumljivo zašto ne može biti resorbirana ona tanka koštana pločica koja se nalazi između dviju sluznica kad se one primaknu jedna drugoj.

Predstavimo sebi šta će se dogoditi kad se dvije takve sluznice u toku pneumatizacijskog procesa primiču jedna drugoj, npr. sluznica desnog i lijevog sfenoidnog ili frontalnog sinusa.

Dok su one nekoliko milimetara razdaleko, naći ćemo na obadvije strane, desnoj i lijevoj, sve one naprijed opisane slojeve, a između njih sloj spongiozne supstancije. Dakle, ako idemo od lijeve strane prema desnoj, naći ćemo najprije sluznicu lijevog sinusa pokrivenu epitelom; ispod toga periošt s osteoklastima koji razaraju kompaktnu; zatim kompaktni koštani štit koji odjeljuje sluznicu od spongioze, a iza toga endost s osteoblastima koji stvaraju nove slojeve kompaktne kosti. Najzad dolazi sloj spongioze različito debele, već prema tome kako je daleko napredovao pneumatizacijski proces, a među gredičama spongioze vidjet ćemo tračke koštane moždine (v. shemu 6).

Odatle prema desnoj strani slijede svi ti slojevi obratnim redom, dakle nakon spongioze dolazi endost s osteoblastima koji produciraju nove slojeve desnog kompaktnog štita; zatim sam taj kompaktni koštani štit; desno od njega periošt s osteoklastima koji sukcesivno razaraju taj štit s desne strane i najzad ćemo naći sluznicu pokrivenu epitelom desnog sinusa (Shema 6).

*Što više napreduje pneumatizacijski proces, to se sve više primiču kompaktni štitovi jedan drugom i to sve uža postaje spongiozna masa između njih.*

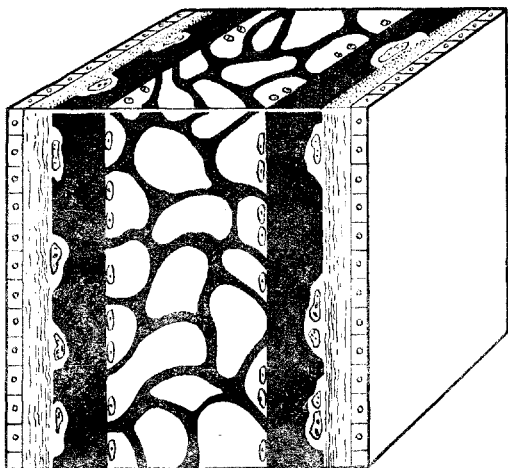
Čitavo to vrijeme nastavlja se naprijed opisani proces. S unutrašnje strane, sa strane spongioze, koštani štitovi postaju apozicijom deblji, dok s vanjske strane, sa strane sluznice desnog odnosno lijevog sinusa, oni u

isto tolikoj mjeri resorpcijom postaju tanji. To znači da oni, kao rezultat toga, ostaju stvarno iste debljine, ali se dislociraju malo po malo. Sloj spongiozne supstancije između njih postaje sve tanji, a kompaktni štitovi se primiču jedan drugom.

*Napokon se kompaktni štitovi dodirnu i međusobno stope.*

Istim onim procesom kojim su koštane gredice spongiozne sukcesivno postajale kraće na mjestu dodira s kompaktnim štitom i u svojoj prvobitnoj formi nestajale, a s njima i koštana moždina na tome mjestu, iščeznu one i ovdje između štitova, koji se napokon potpuno stope u jednu kompaktnu koštanu masu (Schema 7 i Sl. 24 i 25).

*Tine je pneumatizacijski proces na tome mjestu, u oblasti septuma (septum sinuum sphenoidalium, septum sinuum frontalem) završen. Proces se može na drugom mjestu, npr. kod sfenoidnog sinusa, prema nazad nastavljati i dalje, sve dok ne dospije do u oblast stražnjeg dijela trupa sfenoidne kosti ili možda još dalje prema nazad dok ne dosegne*



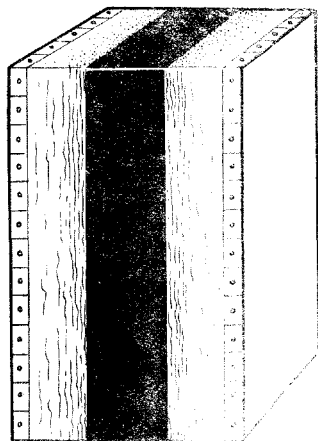
Schema 6.

Razvitak septuma i postizanje imuniteta protiv pneumatizacije. U sredini je još uvijek široka spongioza. Desno i lijevo od nje je po jedan pneumatizacijski stroj u kojima se događa lateralna resorpcija, a medijalno apozicija koštane supstancije. Oni se dakle gibaju jedan protiv drugoga, primiču se jedan drugom, dok spongioza između njih postaje sve uža i napokon sasvim iščezne, a štitovi se stope.

bazilarni dio zatiljne kosti. Ali u oblasti septuma pneumatizacijski proces je završen, i to završen definitivno.

Tu je eto došlo do svoje primjene CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO, prema kome uvijek onda kada se kod pneumatizacije dvije sluznice toliko primaknu jedna drugoj da između njih preostane samo tanka koštana pločica, ta pločica ne može biti resorbirana.

*Kako da se protumači ta uistinu čudna činjenica?*



Shema 7.

Oba su se štita stopila, a spongioza je između njih iščezla. Tim je apozicioni, uz spongiozu vezani, proces eliminiran, zbog čega je cio pneumatizacijski stroj rasformiran, i to za uvijek. Tanka lamela septuma stekla je imunitet protiv pneumatizacije zato što tu pneumatizacije neće biti nikad više U tome leži bitnost Congdon-van Gilseova pravila.

Ako sebi predočimo ono što je naprijed razloženo o pravoj biti procesa pneumatizacije, onda nam postojanje CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILO postaje razumljivim i gubi svaku zagonetnost. Vidjeli smo da proces pneumatizacije nije samo resorpcija, nego da je to kompleksni proces koji se sastoji od dva oprečna procesa, jednog proliferativnog i drugog destruktivnog, koji teku sinhrono, obadva u istoj mjeri i uslovljuju jedan drugi.

Kao što se kod vage jedna zdjelica spušta u istoj onoj mjeri u kojoj se druga uzdiže i kao što vaga prestaje to biti ako se jedna zdjelica odreže, tako je to i ovdje. *Proces pneumatizacije može se nastavljeti samo tako dugo dok njegova obadva oprečna procesa mogu teći nesmetano, dakle samo dotle dok se na jednoj strani kompaktnoga koštanoga štita nova supstancija stvara u onoj istoj mjeri u kojoj ona na drugoj strani štita biva razarana.*

*Kad se kod formiranja septuma te dvije kompaktne lamele toliko približe jedna drugoj da se srastu, time iščezne između njih spongioza, iščezne proliferativna zona, zona stvaranja, zona apozicije nove kompaktne koštane supstancije. Od dva oprečna procesa koji teknu sinhrono i koji uslovljavaju jedan drugi jedan je nestao. I mi vidimo uistinu da odmah prestaje i drugi, odmah prestaje i proces resorpcije. Zato se eto ona tanka koštana pločica uložena između dvije sluznice održi i ne može biti resorbirana. Jedna zdjelica na vagi je odrezana, druga zdjelica pada. Funkcija prestaje.*

*Ranije toliko egzaktan u radu, pneumatizacijski stroj je sad rasformiran i on je prestao funkcionirati.*

To je eto kauzalno tumačenje u čemu se sastoji bit CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA.

Isto tako je time postao razumljiv i nastanak *parcijalnih pregrada* koje se također pokoravaju CONGDON-VAN GILSEOVU PRAVILU, a koje su tako česte u sfenoidnom i čeonom, ali dolaze i u maksilarnom sinusu.

Ako naime za vrijeme pneumatizacije naiđe sluznica na neku zapreku, to na tom mjestu bude ustavljena pneumatizacija, dok se ona s obadvice strane od toga mjesta dalje nastavlja. Tako nastanu sa strane te zapreke dva zatona kojih se zidovi približuju jedan drugom, dok između njih ne preostane samo tanka koštana pločica. Tađ odmah dolazi do promjene CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO te ta tanka pločica ostane trajno održana kao parcijalni septum. TOLDT i kasnije COPE smatrali su da takve zapreke za napredovanje pneumatizacije mogu predstavljati prerana koštana sraštanja onih elemenata od kojih je sfenoid sastavljen. CONGDON i osobito VAN GILSE pokazali su međutim da kompaktna kost ne može biti zapreka za pneumatizaciju, nego da takvu zapreku predstavljaju zaostali tračci vezivnoga tkiva, zaostali dijelovi hrskavice, krvne žilice ili ostaci medijalnog ili lateralnog kraniofaringealnog kanala. Ni ti autori nijesu međutim razjasnili u čemu je pravi razlog da takva zapreka ustavi pneumatizaciju na dotičnom strogo omeđenom mjestu.

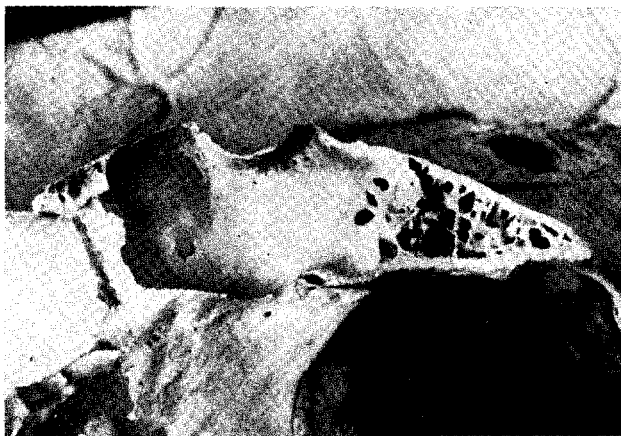
Ako imamo u vidu ono što je naprijed rečeno, postat će nam pravi uzrok toga pristupačan razumijevanju.

Na tome je mjestu naime u jednoj uskoj liniji ili u jednoj tački demontiran pneumatizacijski stroj, on je stavljen izvan funkcije. Jedna zdjelica vage je odrezana, druga je pala. Pneumatizacija može napredovati samo dotle dok proliferacioni i destruktivni proces idu ukorak. Čim se međutim uz stražnju stranu pneumatizacijskog štita, za vrijeme

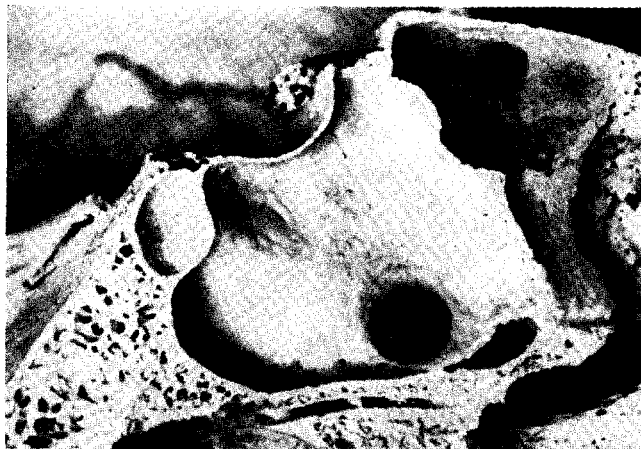


Sl. 1. Otvori u pregradi između stenoidnih sinusa kod 80-god. m. Atrofija kosti





Sl. 3. Tri otvora u septumu između sfenoidnih sinusa kod 80-god. m. Atrofija kosti.

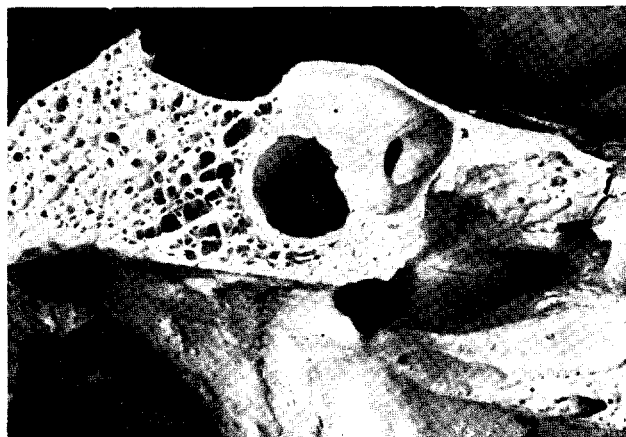


Sl. 4. Desni sfenoidni sinus sa međusinusnom pregradom kod 52 god. žene. U pregradi se vi okrugao otvor, oko njega primjetne dvije zone.



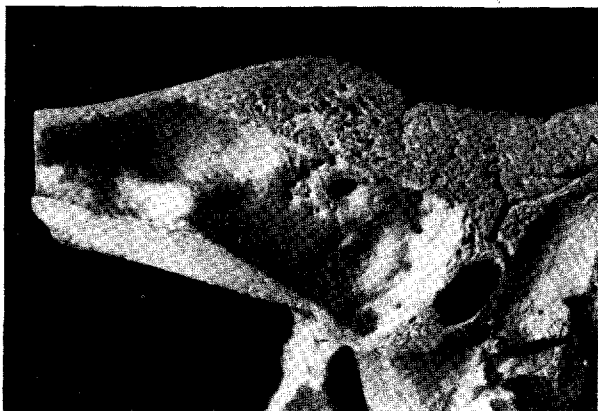
Sl. 5. Desni sfenoidni sinus s međusinusnom pregradom kod 22 god. žene. U pregradi je okruglast otvor. Zid sinusa pokazuje patološke promjene.









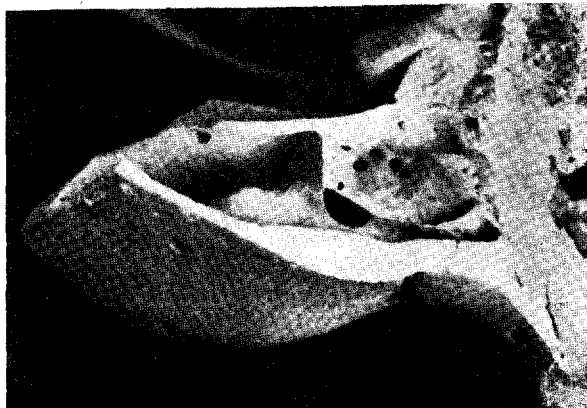




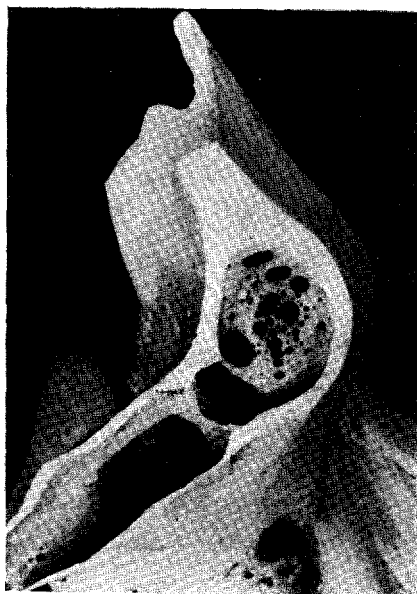




Sl. 18. Frontalni septum je izvanredno tanak. U njem je očajan otvor glatka ruba u gornjem dijelu oštećen. 38-god. m.

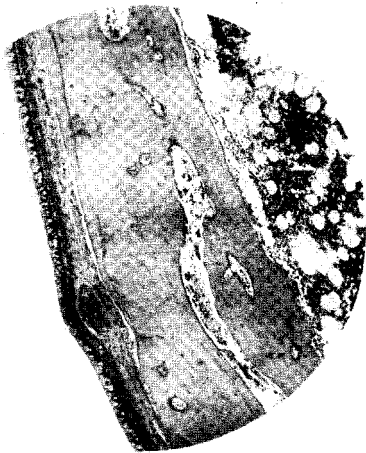


Sl. 19. U čemom septumu vidi se polukružan otvor. Uz septum, priključena čema bula, koja sa šest sitnih otvora





Nl. 21. Lijevi sfenoidni sinus s međusinusnom pregradom iz koje se izbočuje izdanak poput trna (spina). U trupu sfenoida na granici sinusa i spongioze vidi se tanki kompaktni koštani štit koji



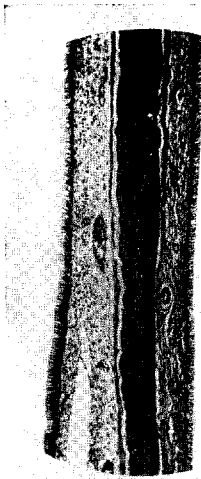
22. Mikroskopski presjek kroz granicu između sluznice sferoidnog sinusa spongioze. Vidi se da ih odjeljuje tanki stit od kompaktne kostane supstancije.



23. Mikroskopski presjek kroz tanki stit od kompaktne koste supstancije, koji odjeljuje sluznicu sferoidnog sinusa od spongioze. Na prednjoj prema sluznici okrenutoj strani štita vidi se po reosorpcije, mnogobrojne Howshipove lakune uslijed djelovanja oste...



Sl. 24. Mikroskopski presjek kroz desni i lijevi sfenoidni sinus. Među njima tanki septum, koji je imun protiv pneumatizacije.





njegova pomicanja prema nazad, prisloni šta bilo što nije spongioza, dakle komadić hrskavice, tračak veziva, krvna žilica ili neka cijev, tim se isključí proliferacioni dio stroja i stoga odmah prestane i resorpcioni, dok neposredno pored toga mjesta gdje spongioza ostaje prislonjena uz pneumatizacijski štít sve ide svojim normalnim tokom dalje. Ako je pak zapreka samo na jednoj tački, pneumatizacija će se nesmetano nastaviti svud unaokolo osim baš ispod te tačke i rezultat će biti nastajanje spine.

Gornje tumačenje nam čini pristupačnim razumijevanju i mnoge druge pojave.

Naprijed je spomenuto da proces pneumatizacije naglo prestane čim sluznica dosegne tanki koštani zid trupa sfenoida, goruži, donji, desni, lijevi, prednji; zatim čim dosegne zid koga bilo prostora u kom su sadržani meki dijelovi: canalis opticus, sulcus caroticus, foramen rotundum, foramen ovale, canalis pterygoideus Vidii, fossa hypophyseos, foramen sphenopalatinum. VAN GILSE to tumači, kako smo naprijed vidjeli, oslabljenom ishranom sluznice uslijed slabije razvijenih krvnih žila na tim mjestima. Nama to tumačenje ne izgleda prihvatljivo. Snabdijevanje krvnim žilama je biološki proces koji se adaptira potrebama. Kad bi bilo potrebno bolje snabdijevanje krvnim žilama, one bi se i razvile. To vidimo npr. osobito impresivno, iako ne bi trebalo miješati normalne i patološke procese, na dva preparata prikazana na našim slikama 5 i 7, gdje su se, kad je uslijed upalnog procesa to postalo potrebno, razvile krvne žile u vrlo velikom broju. Na sl. 7 se vidi npr. preko 100 otvora za novonastale krvne žilice.

Da smanjenje ishrane ne predstavlja najbitniji uzročni faktor za prestanak pneumatizacijskog procesa, mi smo naprijed naveli dva vrlo uvjerljiva dokaza. Kod linearne zapreke prestane pneumatizacija u jednoj uzanoj crti, dok je s obadvije strane spongioza bogato snabdjevena krvlju. Kod tačkaste zapreke to vrijedi po mogućnosti u još većoj mjeri, pa se ipak pneumatizacija ustavi baš u toj jednoj jedinoj tački.

Nama se čini naprotiv mnogo uvjerljivije tumačenje da je i tu došlo do primjene CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO. Čim naime sluznica dopre do tanke kopaktné ploče bilo koga zida, to znači da je na tom mjestu spongioza resorbirana do kraja te je iščezla. Uz spongiozu je bio vezan jedan od dva bitna antagonistička procesa pneumatizacije, i to proliferativni proces. Čim je taj prestao, prestaje odmah i resorptivni proces, to jest prestaje pneumatizacija definitivno. Jedan tas od vage je odrezan, drugi je pao na dno.

Tako su dakle učinjene pristupačnim razumijevanju sve primjene CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILO i ujedno je pokazano da to pravilo nije ništa drugo nego samo jedna primjena ovdje opisanog općeg pravila o dva oprečna sinhrona procesa koji se vrše kod pneumatizacije, ili ukratko pravila o pneumatizacijskom stroju.

## PREGLED

U čovječjoj glavi ima jedna zagonetna pojava na koju su dvadesetih godina ovog stoljeća upozorili CONGDON i VAN GILSE. Ona se sastoji u ovom: Kad se kod pneumatizacije razvijaju dva susjedna pneumatska prostora, npr. desni i lijevi sfenoidni sinus, i kad se oni, postajući sve veći napokon toliko približe jedan drugom da između njih preostane samo tanka pregrada u vidu kao papir tanke koštane ploče, ta ploča dobije na neki način *imunitet*. Ona ne bude resorbirana, nego se održava do kraja života, 70 godina pa i duže.

Ta je zagonetna pojava ostala većini anatomu sve do danas nepoznata, odnosno njeno značenje nije uočeno. Da li postoji to pravilo i u kojoj mjeri postoji, može se najsigurnije utvrditi studijem pregrada između dva sfenoidna odn. dva čeonina sinusa. Treba naime ustanoviti da li je koštani septum uvijek čitav održan, ili može kroza nj nastati komunikacija između tih prostora, što bi moglo značiti da od toga pravila ima i izuzetaka. Navodi o tom u literaturi veoma su različiti i protivurječni. Najveći broj autora ne spominju uopće ni mogućnosti da bi došlo do komunikacije tih prostora kroz septum, dok drugi opet tvrde da su otvori u septumu česti, pa šta više i vrlo česti. Navodi onih autora koji smatraju da su otvori u septumu česti potječu vjerojatno otud što ti autori nijesu strogo lučili totalna septa od parcijalnih septa. *Totalna septa* su naime ona septa koja razdvajaju dva samostalna prostora od kojih je svaki nastao od svoje posebne osnove i ima svoju samostalnu komunikaciju s nosnom šupljinom. *Parcijalna septa* međutim samo odjeljuju pojedine zatone jedne te iste šupljine koji već po načinu svoga postanka moraju međusobno komunicirati. Za istraživanja o kojima se ovdje radi dolaze dakle u obzir samo totalne pregrade.

Mi smo u tom smislu pretražili 600 pregrada između sfenoidnih sinusa na 600 medijano (paramedijano) prepiljenih lubanja od individuuma razne životne dobi. Isto tako smo pretražili isti broj septuma između čeonih sinusa.

Rezultat je kod pregrada između sfenoidnih sinusa ovaj. Na tri septuma od starih ljudi nađene su male dehiscencije, koje s pneumatzacijom nemaju veze; na jednom je nađen otvor, ali taj septum pokazuje vjerojatne tragove nekog patološkog procesa; na jednom je nađen u septumu mali otvor, ali je taj sinus zaostao u rastu i pokazuje teške upalne promjene zida. Nije nađen dakle nijedan slučaj gdje bi postojao otvor u normalnom koštanom septumu, koji bi bio siguran dokaz da postoji izuzetak od pravila o kom se ovdje radi.

Na pregradi između čeonih sinusa od 600 pretraženih objekata nađeno je 16 slučajeva s otvorom u septumu. Na 7 od tih pokazivao je sinus znakove upale ili druge nepravilnosti, dok je samo na 9 ( $1\frac{1}{2}\%$ ) bio sinus bez većih patoloških promjena. Ali i od tih nijedan objekt nije bio iz mlade dobi ispod 40 godina. Doduše naš je materijal većinom od starijih ljudi; međutim mi smo ipak imali 178 objekata iz dobi do 30 go-

dina, ali od tih ni jedan jedini nije imao otvora u koštanom septumu. Rezultat istraživanja frontalnih septuma je dakle taj da nije bilo moguće naći sigurnog dokaza da postoji izuzetak od gore spomenutog pravila iz doba kad se normalno obavlja pneumatizacija čeonog sinusa.

Kod toga treba još jednu stvar imati u vidu. I kad bi postojali takvi rijetki izuzeci, to još ne bi značilo da je u tim slučajevima gornje pravilo bez djelovanja. I tad bi se, osim tih malih otvora, sav ostali široki prostrani septum pokoravao suverenoj vlasti toga pravila i ostao bi ne-resorbiran do kraja života. Ali sigurnog dokaza ni za to da ti maleni otvori prave izuzetak mi nijesmo mogli naći.

Mi smo to pravilo prema autorima koji su najprije na njega upozorili nazvali imenom CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO. Ono nije nešto sporedno, nego je jedno od najvažnijih pravila u građi lubanje. Bez njega lubanja u ovoj formi ne bi mogla postojati.

CONGDON i VAN GILSE opisali su to pravilo kao i sve njegove primjenc. Ali, naravno, prikazati neko pravilo do u detalje jedna je stvar, a razjasniti u čemu je njegova bit, šta je pravi razlog da to pravilo uopće postoji, stvar je sasvim druga. Bit njegova ostala je međutim do danas nerazjašnjena. Mi smo dugo vremena nastojali da taj problem riješimo i došli smo do zaključka da je CONGDON-VAN GILSEOVO PRAVILO *samo jedna primjena jednog šireg zakona po kome se vrši pneumatizacija paranazalnih sinusa.*

Ima više teorija o pneumatizaciji, ali mi u to ovdje nijesmo ulazili. Spomenut ćemo samo da velik broj autora smatra da sluznica nosne šupljine resorbira spongioznu supstanciju urastajući u spongioznu kost. To shvatanje međutim ne može biti ispravno zato što sluznica za vrijeme pneumatizacije nikad ne dodiruje direktno spongioznu supstanciju te je stoga ne može direktno ni resorbirati.

Odavno je poznato, a na to su naročito upozorili VAN GILSE i SITSSEN, da između sluznice i spongiozne supstancije za vrijeme pneumatizacije paranazalnih sinusa postoji jedna tanka ploča od kompaktne koštane supstancije, kao neki štit koji ih odjeljuje. U kome god stadiju pneumatizacije mi istraživali sinus, uvijek je taj štit prisutan. Ali on mijenja svoje mjesto. U početku razvitka dok je sinus još malen štit je sasvim sprijeda: kako sinus postaje veći, štit se pomiče prema nazad, i na kraju kad se razvoj sinusa završi, štit još uvijek postoji kao stražnje omeđenje sinusa i tu još uvijek odjeljuje sluznicu od spongioze. Tako on načini put od 3 cm i više, a pri tom je taj štit građen od čvrste kompaktne koštane supstancije, neelastičan je, to znači: on može putovati samo tako da se na jednoj strani razara, a na protivnoj u istoj mjeri nadograđuje i tako mijenja mjesto. To je slično kao kad bi dvije ekipe radnika obrađivale neki zid, i to tako da ga jedna s jedne strane razara, dok ga druga na protivnoj strani nadograđuje. Zid bi zadržao svoju istu debljinu, ali bi mijenjao mjesto.

Na granici sluznice i spongioze postoji dakle tanki kompaktni štit u kom se obavljaju dva antagonistična procesa, jedan pozitivan, a drugi negativan, proces stvaranja i proces razaranja koštane supstancije. Oba su procesa međusobno uslovljena i jedan bez drugoga ne može funkcionirati. Kad bi djelovao samo proces razaranja, kompaktni štit bi bio ubrzo razoren i pneumatizacija bi prestala, jer sluznica ne može djelovati na samu spongiozu. A kad bi prestao proces razaranja, štit bi se podebljavao sve više i zauzeo bi svojom masom čitav trup sfenoida, trup sfenoida bi se sklerozirao.

Presjek kroz taj predjel pokazuje slijedeće slojeve. Sprijeda je najprije sluznica, zatim submukoza koja se na prednjoj strani kompaktnog štita zgusne u periošt, zatim dolazi štit od kompaktne supstancije koji pokazuje Howshipove lakune s osteoklastima, koji štit s prednje strane razaraju. U štitu su koštane stanice koje svojim mnogobrojnim nastavcima stoje u međusobnoj vezi i tvore sincicijum. Zatim se vidi na stražnjoj strani štita endost s osteoblastima koji stvaraju novu kost i podebljavaju štit na stražnjoj strani. Napokon slijedi spongioza sa koštanim grebicama i koštanom moždinom.

U oblasti koštanog štita postoji dakle jedan kompleksni uveđaj u kom se obavlja sve ono što je karakteristično za pneumatizaciju i koji djeluje samo kao cjelina. Mi smo mu dali naziv: PNEUMATIZACIJSKI STROJ. Ako jedan njegov dio prestane funkcionirati, stroj je rasformiran i on sav prestane djelovati.

To je upravo ono što se događa kod primjene CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA.

Slijedimo dakle šta se događa kad nastaje septum između desnog i lijevog sfenoidnog sinusa. Dok su sinusi još maleni, septum između njih je širok i on se sastoji u sredini od debele mase spongiozne supstancije, koja je desno i lijevo obložena s po jednom tankom pločom kompaktne kosti. Desna ploča, kao štit, odjeljuje spongiozu od sluznice desnog, a lijeva od sluznice lijevog sinusa. Svaki štit sa svojim endostom i spongiozom na medijalnoj strani, sa svojim perioštom i sluznicom sinusa na svojoj lateralnoj strani i sa sincicijem koštanih stanica u svojoj unutrašnjosti predstavlja po jedan pneumatizacijski stroj. Obadva su stroja u punoj funkciji. Ta dva stroja rade jedan protiv drugoga i u svakom se obavljaju dva antagonistična procesa. Na medijalnoj se strani svakog štita događa apozicija koštane supstancije, a na lateralnoj strani resorpcija. To znači štitovi se primiču jedan drugom, dok spongioza između njih, koja je prije bila široka, postaje sve uža i uža, dok ne bude sasvim istrošena. Napokon se štitovi dodirnu i stoje, a spongioza između njih iščezne sasvim.

Apozicioni dio pneumatizacijskog stroja vezan je uz spongiozu i čim ona između štitova nestane, prestaje na obadva štita proces apozicije kosti. Time bude pneumatizacijski stroj rasformiran. Čim prestane apozicija, odmah naime prestane i resorpcija, jer stroj može funkcionirati samo dotle dok obadva njegova dijela, pozitivni i negativni, funkcioniraju.

raju u istoj mjeri. Čim jedan proces bude eliminiran, prestaje odmah i drugi, i to za vazda. Tu pneumatizacije i resorpcije s njom u vezi neće biti nikad više. Eto, zato će ona tanka pločica u septumu dobiti imunitet i zato će se održati do kraja života.

To je dakle kauzalno tumačenje u čemu se sastoji bit CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA, koji je uzrok da to pravilo uopće postoji.

Ista primjena zakona o pneumatizacijskom stroju tumači zašto se pneumatizacija ustavi čim štiti dosegne tanki kompaktni granični sloj trupa sfenoidne kosti, zatim čim dosegne dno fossae hypophysaeos, dno karotične brazde, tanki zid kanala vidnoga živca, kompaktni pokrov klivusa. Vidijev kanal, okvir otvora za drugu i treću granu trigemina ili neku čeliju etmoida.

U tekstu je iznesen prilično uvjerljiv dokaz da impuls za rad pneumatizacijskog stroja ne dolazi od sluznice nego od spongioze, vjerojatno petaknutog centralno. Impuls za rad stroja ne dolazi samo na početku rada nego dolazi neprestano mjesecima i godinama. Čim dolazak prestane, stroj stane. To je slično kao kod sata. Dokle god elastično pero daje pogon, čitav stroj radi i kazaljke se okreću. Čim elastično pero pukne, u satu je grobna tišina. Ta grobna tišina, to je bitnost CONGDON-VAN GILSEOVA PRAVILA.

#### LITERATURA

- Van Alvea, O. E.*: Sphenoid Sinus. Anatomic Study, with Consideration of the Clinical Significance of the Structural Characteristics of the Sphenoid Sinus. Arch. of Otolaryng. 34. 1941.
- Augier, M.*: Squelette céphalique. Poirier-Charpy-Nicolas: Traité d'anatomie humaine, Tome I, IV éd., 1931.
- Braus - Elze*: Anatomie des Menschen, Bd. I. Aufl. II 1920.
- Buchanan - Frazer*: Manual of Anatomy. II ed. 1940.
- Canuit, G., Terracol, I.*: Le sinus sphénoïdal. Masson, Paris, 1925.
- Chiavugi, C.*: Istituzioni di Anatomia dell'uomo. IV ed., 1936.
- Congdon, E. D.*: The Distribution and the Mode of Origin of Septa and Walls of the Sphenoid Sinus. Anat. Record 18. 1920.
- Cope, V. Z.*: Internal Structure of the Sphenoid Sinus: Journal of Anat. 51. 1917.
- Le Double*: Traité des variations des os du crâne de l'homme, 1903.
- Frazer, J. E.*: The Anatomy of the human skeleton III ed., 1933.
- Frazer, J. E.*: A further communication of the formation of the nasal cavities. Journ. of Anat. and Physiology, XLVI, 1911.
- Gérard G.*: Manuel d'anatomie humaine, II éd., 1921.
- Gilse, P. H. G.-van*: Über die Entwicklung der Keilbeinhöhle des Menschen. Zeitschr. f. Hals-Nasen-und Ohrenheilkunde, Bd. 18, 1926.
- Gilse, P. H. G.-van*: Die Entstehung eines Septum frontale anterius der Kieferhöhle. Ref. Zentralblatt für Hals-Nasen-und Ohrenheilk. 12. Bd., 1928.
- Gilse, P. H. G.-van.*: La lutte pour la place dans le développement des sinus nasaux. Acta otorhinolaryng. Vol. XXII. 1935.
- Gary-Johnston - Willis*: Anatomy descriptive and applied, 28. ed. 1944.
- Grünwald, L.*: Deskriptive und topographische Anatomie der Nase und ihrer Nebenhöhlen, Denker - Kähler-Handbuch der Hals-Nasen-Ohrenheilk. I, Bd. 1925.
- Gušić Branimir*: Otologija praktičnoga liječnika. Jugoslav. Akad. znan. i umjet. Zagreb, 1957.
- Hojek, M.*: Pathologie und Therapie der entzündlichen Erkrankungen der Nebenhöhlen der Nase, 1909.

- Hovelacque, A.*: Otolologie II, Crâne-face. 1934.
- Jovanović, S.*: Anatomija frontalnog sinusa kod čoveka (Anatomie du sinus frontal chez l'homme). Glas Srpske akad. nauka CCXXX. Odeljenje medic. nauka, knj. 13, 1958.
- Kolmer, W.*: Geruchsorgan, Handb. d. mikroskopischen Anatomie des Menschen. III. 1927.
- Morris - Schaeffer*: Human Anatomy, X ed., 1946.
- Nikolić, V.*: O odnosima etmoidalnih ćelija i čeonog sinusa i o mješurastim izbočima ovih ćelija u frontalni sinus. Radovi Med. fakult. u Zagrebu. Vol. XI, 1963.
- Parsons - Schaeffer*: The sinus maxillaris and its relations in the embryo, child and adult man, Amer. Journ. of Anatomy. Vol. 10., 1910.
- Parsons - Schaeffer*: The lateral wall of the cavum nasi in man with especial reference to the various developmental stages. J. of Morphology, Vol. 21., 1910.
- Perović, D.*: O sfenoidnom i o dosad nepoznatom frontosfenoidnom izdanku gornje čeljusti kao i o načinu njihove pneumatizacije. Rad Jugosl. Akad. znan. i umjetn. knj. 273, 1947. - Researches concerning the sphenoid and the formerly unknown frontosphenoid process of the maxilla and the way of their pneumatization. Bulletin internat. de l'Académie yougoslave des sciences et des beaux arts. Livre 1. Zagreb, 1948.
- Perović, D.*: O naročitim formacijama na orbitalnom izdanku nepčane kosti kao i o pravom načinu njegova razvitka. Rad Jugoslav. akad. znanosti i umjetnosti, knj. 284, 1951. - Studies concerning the development and the formerly unknown formations of the orbital process of the palate bone. Bulletin internat. de l'Académie yougosl. des sciences et des beaux-arts. Livre 4, Zagreb 1951.
- Perović, D.*: Prilozi poznavanju razvitka i građe čovječije gornje čeljusti i maksilarnog sinusa. Rad Jugosl. akad. znan. i umjetn., knj. 299, 1954. - Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung und des Baues des menschlichen Oberkiefers sowie des Sinus maxillaris. Bulletin internat. de l'Académie yougosl. des sciences et des beaux arts. Livre 4, 1954.
- Radojević, S. i Jovanović, S.*: Proučavanje morfologije i topografije sfenoidnog sinusa kod čoveka. Srpska akad. nauka. Posebna izdanja knj. CCL, 1955.
- Rouvière, H.*: Anatomie humaine, VI. éd. 1948.
- Seiglbauer, F.*: Lehrbuch der normalen Anatomie des Menschen. VIII. Aufl. München - Berlin 1958.
- Sieur - Jacob*: Recherches anatomiques, cliniques et opératoires sur les fosses nasales et leurs sinus. 1901.
- Spee, v.*: Skelettlehre, II Abt. Kopf. Bardelen: Handbuch der Anatomie, Bd I. 1896.
- Stupka, W.*: Die Missbildungen und Anomalien der Nase und des Nasenrachenraumes, 1938.
- Serčer, A.*: Otolaringologija. Prvi dio, Propedeutika, Medicinska knjiga. Beograd. Zagreb, 1951.
- Testut, L. - Latarjet, A.*: Traité d'Anatomie Humaine, IX éd. G. Doin et Co., Paris. 1949.
- Testut, L. - Jacob, A.*: Traité d'Anatomie Topographique. G. Dion et Co., Paris 1931.
- Toldt, C.*: Osteologische Mittheilungen. Zeitschr. f. Heilk. IV Bd. 1883.
- Witt, E.*: Ausbreitung der Stirnhöhlen und Siebbeinzellen über die Orbiten. Anatom. Hefte, Bd. 37, 1908.
- Wittmaack, K.*: Über die normale und die pathologische Pneumatisation des Schläfenbeines. Jena, E. Fischer. 1918.
- Zuckerkanđl, E.*: Normale und pathologische Anatomie der Nasenhöhle und ihrer pneumatischen Anhänge. Bd. I, II, 1892.

Iz Anatomskog instituta Medicinskog fakulteta  
Sveučilišta u Zagrebu.

Primljeno na sjednici Odjela za  
medicinske nauke 6. I 1964.

V. RITTERMAN, E. FERBER, J. AURER-KOŽELJ, A. HORVAT, L. BREMZAY,  
D. ZAKLAN-KAVIĆ, A. BRODAREC i S. KRIZMANIĆ

## ISPITIVANJE FREKVENCIJE KARIJESA U ODNOSU NA PREHRANU U RAVNOJ GORI I BRINJU

Zubni karijes je najčešće oboljenje zubi i jedno od najraširenijih oboljenja današnjeg čovjeka. S razvojem civilizacije karijes postaje sve češći, a njegov nalaz i kod današnjeg čovjeka toliko je čest da predstavlja važan medicinski i socijalni problem.

Prema mišljenju mnogih autora za postanak karioznog procesa potreban je čitav niz faktora, uloga kojih u potpunosti još uvijek nije objašnjena. Ti faktori mogu direktno sudjelovati u nastajanju karioznog procesa i indirektno utjecati na formiranje zuba i njegovu buduću sklonost ili otpornost na karijes.

Jedan od najvažnijih faktora koji omogućava, odnosno sprečava, razvoj karijesa jest prehrana. Ona utječe na zub u razvoju, a kasnije i na zub u funkciji.

Za izgradnju zuba potrebne su dovoljne količine bjelančevina, mineralnih soli i vitamina. Njihov manjak dovodi do loše strukture i loše kalcifikacije zubi i tako do stvaranja predispozicije za karijes (1, 2).

Utjecaj prehrane na zub u funkciji odražava se u mehaničkom i kemijskom djelovanju. Gruba i sirova hrana, kao voće, povrće, prženi kruh, crni kruh i sl., zbog svoje tvrde konzistencije iziskuje intenzivniju mastikaciju i obilniju salivaciju uz bolje čišćenje i abraziju zubi. Mekano priređena hrana, bogata ugljikohidratima, kao bijeli svježi kruh, pecivo, kolači i razne vrste pudinga i bombona, ne pospješuje abraziju i čišćenje, nego se lijepi i zaostaje na površini zubi. Zbog djelovanja bakterija podliježe procesu fermentacije i tako dovodi do dekalcinacije i kariozne lezije.

U kolikoj mjeri utiče način ishrane na nastajanje zubnog karijesa, možemo ocijeniti detaljnim istraživanjem prehrane naroda jednoga kraja.

Potrošnja ugljikohidrata kod civiliziranih naroda postaje sve veća, a uporedo s tim i pojava karijesa postaje sve češća. Novija ispitivanja (3) su pokazala da je karijes kod školske djece koja su jela kolače u većim količinama znatno napredovao, a ukoliko se smanjivala potrošnja, karijes je bio znatno rjeđi. Također je nađeno da djeca iz sirotišta, hrana koje je oskudna ugljikohidratima, pokazuju relativno malo karijesa, (4) a dijabetičari nakon dijeta bez šećera pokazuju znatnu redukciju karijesa (5).

Uloga fluora mnogo je isticana u etiologiji zubnog karijesa. Ispitivanja su pokazala da je u područjima gdje voda sadržava manje od 600  $\mu\text{g}$  F/l. frekvencija karijesa mnogo veća nego u područjima gdje je sadržaj fluora veći od spomenute količine. Smatra se da je optimalni sadržaj fluora u vodi za piće 1 mg/l.

Kod nas je u više navrata ispitan utjecaj fluora na frekvenciju karijesa kod školske djece. Rezultati tih ispitivanja nisu pokazali korelaciju između sadržaja fluora u vodi za piće i učestalosti karijesa na tim tere-nima, osim kod ispitivanja u Lipiku i Pakracu (6, 7, 8, 9). U toku tih ispitivanja već je uočeno da u etiologiji karijesa uz flour određenu ulogu igra i prehrana.

#### *Zadatak.*

Prilikom preliminarnih ispitivanja učestalosti karijesa u Gorskom kotaru i Lici (10) ustanovljena je velika razlika u broju oboljelih osoba od karijesa u Ravnoj Gori od broja u Brinju. Anketiranjem prehrane u oba mjesta željeli smo utvrditi koliki je utjecaj načina prehrane u toj pojavi.

Ravna Gora je visinski predio Gorskog kotara (nadmorska visina 816 m) s dobrim komunikacionim vezama, blizu auto-puta i željeznice. Brinje leži u kraškom predjelu Like (nadmorska visina 481 m) sa slabim komunikacionim vezama, po strani od ceste drugoga reda, između Otočca i Ogulina. Prema dobivenim podacima u općini Ravna Gora stanovništvo je pretežno zaposleno u jako razvijenoj drvenoj industriji, a u općini Brinje, koja je manja od Ravne Gore, u industriji je zaposlen manji dio stanovništva. U Brinju se stanovništvo većinom bavi poljoprivredom, naročito stočarstvom, što se očituje u velikoj razlici broja muzne stoke, koje u općini Brinje ima oko 4.300, a u općini Ravna Gora svega oko 600 grla.

#### *Metode rada.*

##### *Anketa prehrane.*

Metodom slučajnog izbora izabrano je 20 porodica u svakom naselju, kod kojih je u toku sedam dana ispitivana prehrana. Anketa je vršena u jesen 1961. godine.

Ispitivanje prehrane vršilo se konsumptivno-analitičkom metodom, tj. sve su se živežne namirnice u kućanstvu vagale u sirovom i očišćenom stanju. Kućanica je priredila sve namirnice, a anketar, medicinski tehni-

čar, vagao ih je i odvage upisivao u poseban formular. Vaganje je vršio dva do tri puta na dan, prema raspoređenim obrocima. Osim toga su u formular upisani podaci o jelovniku, tj. o vrsti gotovih jela koja su u toku svakog dana priređivana. Školski mliječni obrok nije uračunat u podatke, jer školske mliječne kuhinje za vrijeme ankete još nisu radile.

Prilikom anketiranja podaci o potrošnji bombona nisu bili registrirani. Za vrijeme kliničkog pregleda saznali smo da djeca u Ravnoj Gori skoro svaki dan troše znatnije količine raznih bombona, dok ih u Brinju rijetko koje dijete troši.

Prema kaloričnim tablicama koje je priredio Odjel za higijenu prehrane Republičkog zavoda za zaštitu zdravlja u Zagrebu (11) izračunate su kalorične vrijednosti i ostali metaboliti hrane koja je svakodnevno trošena. Prikazane su srednje vrijednosti potrošnje pojedinih metabolita i kalorija.

### *Kliničko ispitivanje.*

Kod terenskih ispitivanja prehrane uobičajeno je da se koreliraju podaci o prehrani s objektivnim pokazateljima fizikalne pretrage anketiranog stanovništva.

Deficiti određenih metabolita u prehrani mogu se odraziti i na zdravstveno stanje anketiranog stanovništva u pojavi kliničkih simptoma deficitarnih oboljenja.

U oba mjesta pregledana su školska djeca osmogodišnjih škola, jer su najpristupačnija pregledu.

Svako dijete bilo je podvrgnuto detaljnom pregledu usne šupljine. Podaci su uzimani prema ranije pripremljenim upitnicima. Prilikom pregleda, koji je izvršen sondom i zrcalom, registrirane su promjene na zubima: karijes, hipoplazije, ekstrakcije i plombe, zatim disgnatije i promjene na mekim tkivima usne šupljine.

Pregled stanja uhranjenosti obuhvatio je pored antropometrijskih mjerenja i registraciju simptoma koji su posljedica deficitarne prehrane.

Od antropometrijskih mjera uzeta je visina i težina tijela, obujam grudi, trbuha, nadlaktice i ručnog zgloba, biakromijalni i bikristalni raspon i potkožno masno tkivo. Vaganje je vršeno u donjem rublju, bez obuće. Potkožno masno tkivo određivano je mjerenjem debljine kožnih nabora kaliperom po John Bullu, s konstantnim pritiskom od 10 g/mm<sup>2</sup>. Mjerenja su vršena na vanjskoj strani nadlaktice i na donjem rubu skapule.

Naročita pažnja bila je usmjerena na znakove deficita prehrane na vidljivim sluznicama i koži. Isto tako je evidentiran stepen gušavosti i rahiitisa. Klinički simptomi deficitarnih pojava registrirani su prema adaptiranom formularu po Jolliffeu (12). Kod klasifikacije guše služili smo se preporukom SZO iz 1960. godine (13).

Od biokemijskih pretraga vršeno je kod sve pregledane djece određivanje hemoglobina kao jednog od najboljih pokazatelja općeg stanja **uhranjenosti, odnosno znakova anemije**. Hemoglobin je određivan po cijan-hematinskoj metodi-King-Gilchrist (14).

U oba mjesta odabrane su po dvije grupe djece za određivanje nivoa C vitamina u krvi. Jedna grupa predstavlja djecu s hipertrofičnim gingivitisom, a druga grupa je bila kontrolna s normalnom sluznicom. U svakom mjestu uzeto je 30 uzoraka krvi. Određivanje nivoa C vitamina vršeno je po difenilhidrazinskoj metodi Roe i Kuether (15).

Da bismo ustanovili ulogu fluora u registriranoj razlici frekvencije karijesa u Ravnoj Gori i Brinju, vršili smo i kvantitativno određivanje fluora (16) i tvrdoće vode za piće (17) u oba mjesta. Osim toga u tim vodama određivan je i jod kao indikator strumogenosti terena (18).

### *Rezultati.*

U tablici 1 i 2 i 1a i 2a prikazana je struktura anketiranih porodica prema broju članova, starosti i spolu.

Tablice 3 i 3a prikazuju potrošnju pojedinih namirnica u gramima, kalorijama i procentualnom udjelu pojedinih namirnica u ukupnim kalorijama, apsolutni iznos pojedinih metabolita kao i njihov procentualni udio u ukupnim kalorijama.

Iako je u kvantitativnom pogledu prehrana u Brinju bolja i iznad jugoslavenskog prosjeka, ne možemo tvrditi da je prehrana u Ravnoj Gori deficitarna. Sa 2761 kalorijom po osobi ona potpuno zadovoljava.

Udio bjelanjčevina (12%) i masti (29%) u ukupnim kalorijama sasvim **zadovoljava, a osobito količina animalnih bjelanjčevina**. Udio ugljikohidrata ne prelazi prosjeke nađene u drugim ispitivanjima u Hrvatskoj, nego je čak ispod vrijednosti koje su dobivene u tim anketama. Potrošnja žitarica nije pretjerana. Osobito zadovoljava visoka potrošnja mliieka u oba mjesta, koja je mnogo viša od republičkog prosjeka (110 g). U Ravnoj Gori uglavnom se troši bijeli kruh, a u Brinju pretežno crni i polubijeli. U oba se mjesta troši kukuruzno brašno za pripremu žganaca. U oba mjesta kućanice kupuju kruh u pekari. Kruh je dobro pečen i nije gnjecav.

S obzirom da je anketa vršena u jeseni, zadovoljava i potrošnja voća i povrća u oba mjesta. Vjerujemo da je ona niža u proljeće, osobito potrošnja voća. Relativno je niska potrošnja mesa u Ravnoj Gori (70 g), a veća je u Brinju (100 g).

Godišnja potrošnja šećera je u oba mjesta visoka i jako iznad jugoslavenskog prosjeka u selu (7 kg). Ona iznosi u Ravnoj Gori više od 16 kg, a u Brinju skoro 18 kg. Potrošnja krumpira je visoka, osobito u Ravnoj Gori.

Tablica 4 prikazuje učešće pojedinih hranjivih tvari u odnosu na broj članova u porodici. U Ravnoj Gori uočena je zakonitost smanjivanja kalorija u porodicama s većim brojem djece kao i postepen pad potrošnje

Tablica 1 - Broj anketiranih porodica prema broju članova  
 Table 1 - Number of surveyed families by number of family members

Broj članova u porodici Number of members in the family	3		4		5		6		7		8		Ukupno Total	
	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B
Broj porodica Number of families	1	5	10	8	3	3	3	4	2	—	1	—	20	20
Ukupno članova Total number of members	3	15	40	32	15	15	18	24	14	—	8	—	98	86

+ RG = Ravna Gora

+ B = Brinje

Tablica 2 - Struktura anketiranog stanovništva po godinama starosti  
 Table 2 - Structure of surveyed population by age in years

Spol Sex	0—1		2—3		4—6		7—12		13—18		19—50		51—60		61—70		> 70		Ukupno Total	
	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B
M M	0	0	2	0	6	4	17	11	4	7	15	17	3	3	5	3	0	1	52	46
Z F	1	0	1	3	3	3	11	6	3	1	19	21	3	1	3	3	2	2	46	40
Ukupno Total	1	0	3	3	9	7	28	17	7	8	34	38	6	4	8	6	2	3	98	86

+ RG = Ravna Gora

+ B = Brinje

Tablica 3 - Potrošak, sastav i kalorijska vrijednost namirnica s njihovim procentualnim udjelom u ukupnim količinama (po osobi/dan)  
 Table 3 - Consumption, composition and caloric value of foodstuffs and their percentual share in the total amounts (per person/day)  
 (Brinje)

	Količina u g Amount in Gms	Kalorije		Bjelančevine		Mast		Ugljikohidrati	
		Calories	%	g	%	g	%	g	%
Kruh Bread	356.0	875.0	27.3	28.8	31.1	1.1	1.0	182.1	40.0
Brašno, krupica, kukuruzno brašno Flour, Groats, Indian Meal	72.0	280.0	8.7	8.4	8.9	2.0	1.9	57.7	12.3
Riža i ječ. kaša Rice and Peeled Barley	6.0	21.0	0.6	0.6	0.7	0.1	0.1	4.2	0.9
Tjestenina i mrvice Pastry and Crumbs	7.5	27.0	0.8	0.9	0.9	0.1	0.1	5.7	1.0
Grah Beans	19.6	60.0	1.8	4.6	4.9	0.4	0.3	9.5	1.9
Krumpir Potatoes	303.0	291.0	9.1	6.1	6.3	0.6	0.5	63.3	12.7
Povrće svježe i konzervirano Green and Preserved Vegetables	150.0	53.0	1.5	2.3	2.3	0.3	0.4	9.5	0.7

Meso svježe, suhe elastina i mes. preradovine Fresh and Processed Meat, Smoked Bacon	100.5	217.0	6.6	18.3	19.5	15.1	14.0	3.2	0.8
Jaja (kom.) Eggs (pieces)	0.6	52.0	1.6	3.1	3.2	2.8	2.8	0.1	—
Mlijeko i mliječ. proizvodi Milk and Dairy Products	548.3	380.0	11.8	20.9	22.0	20.7	20.0	25.0	5.2
Ulje Oil	8.8	90.0	2.7	—	—	9.6	9.2	—	—
Mas Lard	49.0	455.0	14.2	0.1	0.1	48.9	47.5	—	—
Voće i voćne preradovine Fresh and Processed Fruit	271.0	208.0	6.5	0.1	0.1	2.3	2.1	47.8	11.6
Šećer i čokolada Sugar and Chocolate	48.7	195.0	6.8	0.1	0.1	0.2	0.2	47.1	11.6
Ukupno Total		3205	100	94,16	100	104,1	100	455,1	100
% učešća u ukupnim kalorijama % Share in total calories				12,9%		30,9%		58,9%	
Animalne bjelačevine g Animal proteins g				42,4	44,8				

Tablica 3a - Potrošak, sastav i kalorijska vrijednost namirnica s njihovim procentualnim udjelom u ukupnim količinama  
(po osobi/dan)

Table 3a - Consumption, composition and caloric value of foodstuffs and their percentual share in the total amounts  
(per person/day)  
(Ravna Gora)

	Količina u g Amount in Gms	Kalorije Calories		Bjelančevine Proteines		Mast Fats		Ugljikohidrati Carbohydrates	
			%	g	%	g	%	g	%
Kruh Bread	249,0	631,0	23,5	19,8	24,0	1,1	1,2	129,0	33,0
Brašno, krupica kuk. brašno, puding Flour, Groats, indian meal	112,0	373,0	13,0	12,4	15,0	3,6	3,7	79,0	19,4
Riža i ječ. kaša Rice and peeled barley	5,9	21,0	0,7	0,7	0,8	0,1	0,1	4,3	1,1
Tjestenine i mrvice Pastry and crumbs	6,8	25,0	0,9	0,9	1,1	0,4	0,1	5,2	1,4
Grah Beans	11,8	41,0	1,5	2,9	3,6	0,2	0,3	5,5	1,4
Krumpir Potatoes	217,8	209,0	7,5	4,4	5,5	0,4	0,5	45,0	11,2
Povrće svježe i konzervirano Green and Preserved vegetables	182,0	90,0	3,2	4,1	5,1	0,8	0,9	12,0	3,0

Meso svježe, suha elaina i mes, prerad., riba Fresh and processed Meat, Smoked bacon, fish	70.0	80.0	2.8	12.8	16.0	8.9	10.1	0.1	0.01
Jaja (kom) Eggs (pieces)	0.4	29.0	1.0	2.2	2.3	4.1	4.6	0.1	0.01
Mlijeko i mliječ. proizvodi Milk and dairy products	526.9	446.0	16.5	21.3	26.0	22.2	25.0	24.7	6.3
Ulje i margarin Oil and margarine	5.5	49.0	1.7	0.01	—	4.1	4.2	0.1	0.02
Mast Lard	41.2	382.0	13.8	0.1	0.1	40.5	46.0	—	—
Voće i voćne preradevine Fresh and Processed fruit	269.1	198.0	7.2	0.3	0.4	1.8	2.3	45.0	11.2
Šećer i kakao Sugar and cocoa	46.7	187.0	6.7	0.1	0.1	0.1	1.1	46.0	12.0
Ukupno Total		2761.0	100	82.0	100	88.0	100	396.0	100
% učešća u ukupnim kalorijama % Share in total calories				12%		29%		59%	
Animalne bjelancevine g Animal proteins g				36.4	44.4				

zaštitnih metabolita, iako količine u cijelosti zadovoljavaju. Ta zakonitost se ne opaža u Brinju, čak je raspored potrošnje obrnut, pa je u višećelanim porodicama prehrana kvalitetnija.

Opskrba vitaminima i mineralnim solima zadovoljava u oba mjesta. Osobito treba istaći dovoljnu potrošnju kalcija, koja isključuje eventualni utjecaj prehrambenog deficita kalcija na formiranje zubi.

Potrošnja alkoholnih pića minimalna je i ne igra vidnu ulogu u ukupnom iznosu kalorija. Za vrijeme ankete kućanstva nisu raspolagala zalihama alkoholnih pića, dok se potrošnja izvan kuće mogla evidentirati samo u pojedinim slučajevima.

U oba mjesta uživali su članovi porodice po tri obroka dnevno. U Ravnoj Gori troše za zajutak uglavnom bijelu kavu i kruh, u dvije porodice mlijeko i kruh, a u jednoj kakao i kruh. U Brinju se uz bijelu kavu troši pekmez i voće. Hrana je u oba mjesta raznovrsna i ukusno priređena. Higijenske prilike u kućama i prilikom priređivanja hrane bolje su u Ravnoj Gori nego u Brinju.

Bilo bi svakako zanimljivo ponovno anketiranje u proljetnom razdoblju, jer je vjerojatno da je potrošnja voća i povrća u proljeće manja. Zbog velikih troškova ankete morali smo odustati od toga, pretpostavljajući da postoje sezonske varijacije u prehrani. *Klinički pregled* obuhvatio je ukupno 292 djece u Brinju (muških 156, ženskih 136), a u Ravnoj Gori 468 (muških 239, ženskih 220), dok je stomatološkim pregledom obuhvaćeno u Brinju 459, a u Ravnoj Gori 467 djece.

Učestalost zubnog karijesa po osobama i po zubima prikazali smo u tablici 5. U Ravnoj Gori od ukupno 467 pregledane djece 99,2% imalo je karijes, a samo četvero je bilo bez karijesa. U Brinju je od 459 pregledane djece 77,3% imalo kariozne zube, a 104 od njih je bilo bez karijesa. Značajnost razlike karijesa po osobama testirali smo i prema dobivenom rezultatu  $\lambda = 9,96$  (uz razinu značajnosti  $\alpha = 0,01$ ); možemo zaključiti da je razlika statistički značajna ( $P \ll 0,01$ ).

Usporedimo li karijes po ukupnom broju zubi, vidjet ćemo da je u Ravnoj Gori bilo 36,6%, a u Brinju 16,4% zubi s karijesom. Isto tako smo testirali značajnost razlike karijesa po broju zubi. Prema dobivenom rezultatu  $\lambda = 36,4$  ( $\alpha = 0,01$ ) možemo zaključiti da je razlika statistički značajna ( $P \ll 0,01$ ).

Prosječna dob pregledane djece u jednom i u drugom mjestu bila je između 10 i 11 godina, tako da su djeca u Brinju u prosjeku starija za dva mjeseca.

Najčešće je zahvaćen karijesom u trajnom zubalu prvi molar. U mliječnom zubalu bili su sjekutići i molari (Grafikon 1), što se i predviđa kod visoke frekvencije karijesa. Najmanje su zahvaćeni karijesom očnjaci i premolari, koji najkasnije izbijaju.

Analiziramo li DMF faktor (D-karijes, M-ekstrakcija, F-plomba), vidimo da je on veći za sve dobne skupine kod djece u Ravnoj Gori nego kod djece u Brinju (Tablica 6 i 6a). U oba mjesta upada u oči vrlo malen broj plombiranih zubi u odnosu na kariozne i ekstrahirane.

Tablica 4 – Učesće pojedinih hranjivih tvari u odnosu na broj članova u porodici po osobi na dan  
 Table 4 – Share of individual nutrients in relation to the number of family members (person/day)

Broj članova u porodici Number of family members	Kalorije Calories	Bjelancevine Proteins Gms	Masti Fats Gms	Tijelohidrati Carbohydrates	Vitamins				Minerals			
					A	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	PP	C	D	Ca	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
					IJ I.U.	mg	mg	mg	mg	IJ I.U.	mg	mg
3	RG* 3123	98 80	120 115	493 431	13071 4888	1,67 1,58	3,15 2,39	26,86 20,74	144 110	209 457	710,4 619,0	25,4 19,0
4	RG 3224	88 97	94 110	439 439	5395 5046	1,69 1,53	2,30 2,51	21,03 22,59	110 87	247 350	684,2 771,0	20,8 20,0
5	RG 3130	75 93	84 101	353 446	5765 4475	1,17 1,48	1,91 2,39	15,34 16,86	84 90	293 216	721,3 879,0	16,1 22,0
6	RG 3338	87 106	93 90	391 504	6073 4175	1,36 1,75	2,14 2,30	16,83 25,30	100 116	401 133	908,3 868,0	17,2 23,0
7	RG 2670	77	61	436	3034	1,63	1,71	15,09	76	416	833,0	17,2
8	RG 2091	68	77	266	3209	0,97	1,84	10,67	71	101	771,2	11,5
Prosjeck za jednog člana Mean per Member	RG 3205	82 94	88 104	396 455	6091 4646	1,42 1,58	2,18 2,39	17,64 21,37	96 101	278 289	771,4 786,0	18,0 21,0
Animalne bjelancevine Animal proteins	RG B	36,6 42,4										

RG\* = Ravna Gora B\* = Brinje

Na tablici 7 prikazana je učestalost hipoplazije, najčešće anomalije strukture zubi. U Ravnoj Gori našli smo 7.7% zubi s hipoplazijama, a u Brinju 2,4%. U oba mjesta javljaju se češće na trajnim zubima i u mladim dobnim skupinama. U Ravnoj Gori našli smo također 26 slučajeva dentitio tarda, a u Brinju samo 3. Anomalije čeljusti (kompresije i otvoreni ugriz) također su znatno češće u Ravnoj Gori nego u Brinju. Sve te pojave smatraju se posljedicom poremećenja u mineralizaciji čeljusti i zubi, do kojih dolazi zbog rahitisa, dječjih zaraznih bolesti, dispepsije, tetanije i sl.

Što se tiče promjena na mekim dijelovima sluznice usne šupljine, evidentirali smo samo klinički jasno izraženo simptome.

Najuočljivije su bile promjene na gingivi (Tablica 8). U Ravnoj Gori smo kod 312 djece (67%) našli upalne promjene gingive, a taj broj u Brinju iznosio je 136 (29%). Najčešći su bili hipertrofični gingivitis, a odmah iza njih marginalne upale gingive. U Ravnoj Gori kod dvije trećine djece nađen je lokalni uzrok upalnim promjenama (zubni kamenac i disgnatije), a kod jedne trećine slučajeva nije bilo vidljivog lokalnog faktora iritacije u ustima. Nalaz u Brinju nešto se razlikovao. Svega kod sedmero djece nije bilo vidljivog fokalnog faktora iritacije. Naslage zubnog kamena bez upalnih promjena na gingivi bile su vrlo rijetke.

Čest je bio nalaz *angulus oris infectiosus* i *angulus oris* s radijalnim brazdama. *Heilozes* s radijalnim brazdama u području kuta usana smatraju se jednim od znakova deficita riboflavina. U Ravnoj Gori našli smo 108 slučajeva s upalnim promjenama i radijalnim brazdama u području kuta usana, a u Brinju samo 6. *Angulus oris infectiosus* u Ravnoj Gori je nađen kod 56, a u Brinju kod 34 djece.

Naizazili smo i na promjene sluznice jezika. U Ravnoj Gori je bio veći broj djece s hipertrofijom i atrofijom filiformnih papila jezika nego u Brinju. *Lingua plicata* je bila također češća u Ravnoj Gori nego u Brinju, a *lingua geographica* nađena je samo u Ravnoj Gori (Tablica 9).

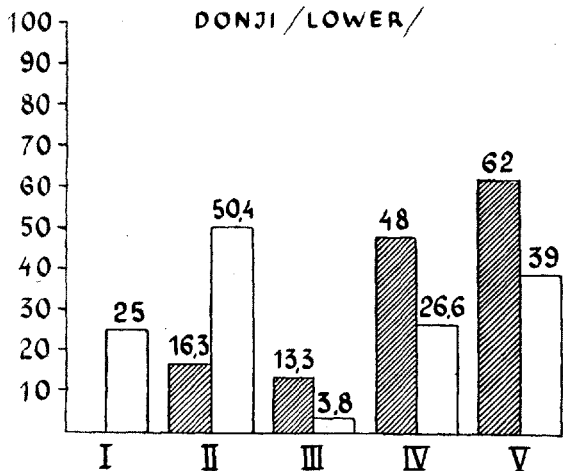
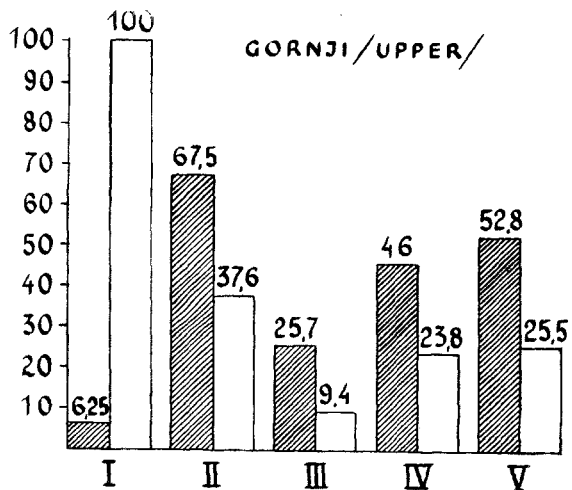
*Cheilitis simplex* bio je čest u oba mjesta: u Ravnoj Gori 196, a u Brinju 117 slučajeva. Nalaz *herpes labialis* bio je u oba mjesta isti - 19 slučajeva. Te promjene mogu se dovesti u vezu s klimatskim prilikama koje su vladale u doba ankete.

Visine djece u Ravnoj Gori i Brinju približno su jednake, s neznatnim odstupanjem u pojedinim dobnim skupinama. Težine djece također ne pokazuju bitne razlike u oba naselja (Tablica 10 i Grafikon 2 i 3).

Obujam grudí, trbuha, nadlaktice i ručnog zgloba pregledane školske djece u većini dobnih skupina nešto je niži u Ravnoj Gori nego u Brinju.

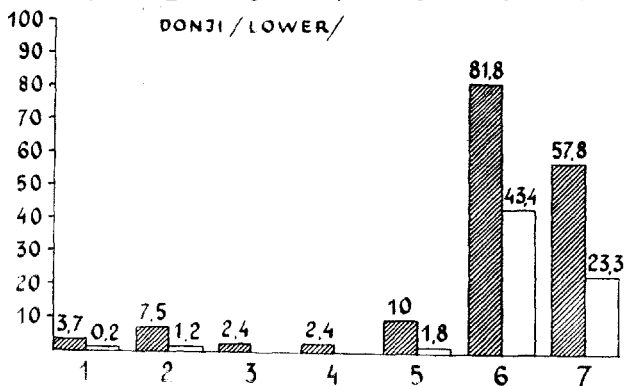
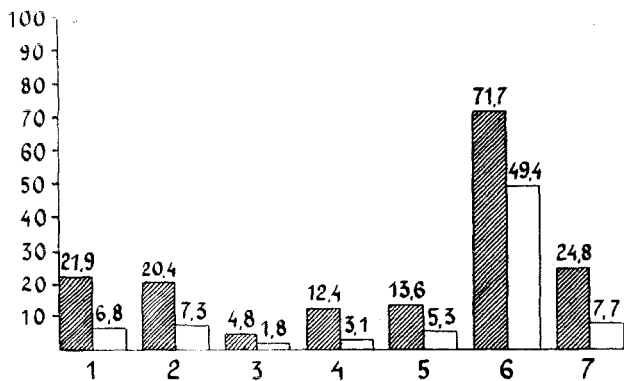
Visina kriste, biakromijalni i bikristalni rasponi nešto su veći u Ravnoj Gori nego u Brinju, što pokazuje bolju razvijenost skeleta kod djece u Ravnoj Gori. Nešto veća tjelesna visina, širi lateralni rasponi i veća visina kriste pokazuju eventualno bolje razvijeni koštani sistem kod djece u Ravnoj Gori, a veća tjelesna težina i cirkumferencije djece u Brinju pokazuju povezanost s većim energetske prihodom.

Grafikon Ia. Dentes decidui.



Grafikon 1b. Dentes permanentes.

CORNJI (UPPER)



Tablica 3 - Razprenost zubnog karijesa i hipoplazija kod školske djece u Ravnoj Gori i Brinju  
 Table 3 - Incidence of dental caries and hypoplasia in school children at Ravna Gora and Brinje

Ravna Gora	467	10,6	11208	463	4	4114	99,2	36,6	7,7
Brinje	459	10,8	11016	355	104	1835	77,3	16,4	2,4
	Ukupan broj pregleda Total Number of Examinations	Prosječan broj godina Average Age	Ukupan broj zubi Total Number of Teeth	Broj djece s karijesom Number of Children With Caries	Broj djece bez karijesa Number of Children Without Caries	Broj zubi s karijesom Number of Teeth With Caries	% djece s karijesom % of children With Caries	% zubi s karijesom % of Teeth With Caries	% hipoplast. zubi % of Hypoplastic Teeth

Tablica 6 - DMF Index - Brinje

Dob Age	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Broj djece (N) Number of children	2	48	53	41	51	77	74	52	48	13
(D) Kariozni zubi Decayed	10	269	173	149	155	181	163	141	165	30
(M) Izostali zubi Missing	7	83	36	37	50	89	40	19	23	2
(F) Plombirani zubi Filled		5	3			4		2		
DMF zubi (ukupno) DMF Teeth (total)	17	357	212	186	205	274	203	162	188	33
DMF Index	8,5	7,4	4	4,5	4	3,5	2,7	3,1	3,9	2,5

D - kariozni zubi      M - izostali zubi      F - plombirani zubi

Tablica 6a - DMF Index - Ravna Gora

Dob Age	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Broj djece (N) Number of children	10	53	50	50	63	44	72	66	54	5
(D) Kariozni zubi Decayed	94	417	443	448	414	294	512	451	349	25
(M) Izvadeni zubi Missing	48	62	79	64	99	50	72	38	43	5
(F) Plombirani zubi Filled	1	2	2	6	6	3	4	33	37	1
DMF zubi (ukupno) DMF Teeth (total)	143	479	524	512	519	347	588	522	429	31
DMF Index	14,3	9	10,5	10,2	8,2	7,9	8,2	8	8	6,7

D - kariozan zub    M - izvadjen zub    F - plombiran zub

Tablica 7 - Raširenost hipoplazija po dobi

Table 7 - Incidence of hypoplasia by age

Dob u godinama Age in years	6		7		8		9		10	
	RG*	B*	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B
N.	10	2	53	48	50	53	50	41	63	51
Broj zubi s hipoplaz. Number of Teeth with Hypoplasia	83		76	45	165	23	114	38	126	19
Broj hipoplazija po osobi Number of Hypoplasias per Person	8,3		1,4	0,9	3,3	0,4	2,3	0,9	2	0,4

Dob u godinama Age in years	11		12		13		14		15	
	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B
N.	44	77	72	74	66	52	54	48	5	13
Broj zubi s hipoplaz. Number of Teeth with Hypoplasia	67	25	123	70	97	41	6	4		
Broj hipoplazija po osobi Number of Hypoplasias per Person	1,5	0,3	1,7	0,9	1,5	0,8	0,1	0,08		

\* RG = Ravna Gora (N = 467)

\* B = Brinje (N = 459)

Tablica 8 - Upalne promjene na gingivi  
Table 8 - Inflammatory changes in the Gums

	Gingivitis Catarrhalis		Gingivitis Marginalis		Gingivitis Hypertrop- hicans		Paradentitis		Zubni kamenac (bez upale) Tartar (Without Inflammation)	
	RG*	B*	RG	B	RG	B	RG	B	RG	B
Bez znakova lokalne iritacije Without Signs of Local Irritation	7	5	10		115	7			10	15
Sa zubnim kamencem With Tartar			55	56	81	43	18	3		
S disgnatijama			8	5	18	17				
Ukupno Total	7	5	73	61	214	67	18	3	10	15

\* RG = Ravna Gora (N = 467)

\*B = Brinje

(N = 459)

Tablica 9 Promjene na sluznici usne i jezika kod školske djece u Ravnoj Gori i Brinju  
Table 9 - Changes in the mucosa of the lips and the tongue in school children at Ravna Gora and Brinje

	Hipertrofija filiformnih papila jezika Hypertrophy of filiform Papillae of the Tongue	Atrofija filiformnih papila jezika Atrophy of filiform Papillae of the Tongue	Lingua plicata	Lingua geografica	Angulus oris infectiosus	Angulus oris sa radialnim brazdama Angulus oris with radial Fissures
Ravna Gora	14	29	35	3	56	108
Brinje	4	8	9	0	34	6

Tablica 10 – Visina i težina školske djece u Ravnoj Gori i Brinju ( $M \pm SD$ )  
 Table 10 – Height and weight in school children at Ravna Gora and Brinje ( $M \pm SD$ )

Dob u godinama Age in years	7		8		9		
	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	
Visina Ravna Gora Height Brinje	116,75±4,98 120,08±4,82	117,4±4,31 118,9±4,28	122,98±5,55 120,79±5,26	125,2±6,01 121,2±4,42	129,04±6,35 128,42±6,44	126,24±5,73 127,20±3,32	
Težina Ravna Gora Weight Brinje	21,52±4,15 22,89±1,56	21,1±2,47 22,7±3,17	24,62±4,26 24,77±2,77	21,6±2,42 22,7±2,06	26,77±2,88 27,09±2,42	25,36±3,73 26,96±3,03	
Dob u godinama Age in years	10		11		12		
	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	
Visina Ravna Gora Height Brinje	134,53±4,76 135,32±3,17	134,81±6,86 134,30±4,24	138,56±6,41 140,69±9,83	138,45±6,29 138,03±5,69	142,95±5,21 142,80±6,00	150,12±6,98 144,80±5,49	
Težina Ravna Gora Weight Brinje	29,48±3,04 30,43±2,33	29,68±5,56 30,55±1,96	31,74±3,83 32,86±3,81	31,77±4,22 32,60±4,34	34,36±4,45 34,53±2,54	36,88±5,75 38,06±6,89	
Dob u godinama Age in years	13		14		15		N
	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	
Visina Ravna Gora Height Brinje	148,10±6,73 148,64±7,90	150,19±6,04 148,70±6,29	152,88±7,82 157,19±9,70	153,88±8,04 153,30±6,49	155,16±8,49 163,00±7,88	158,00±6,73 157,20±4,71	468 292
Težina Ravna Gora Weight Brinje	38,60±5,85 38,75±4,99	42,04±6,96 39,75±5,98	44,88±6,71 44,88±8,88	46,74±7,63 47,20±9,36	46,55±6,25 50,25±8,48	50,60±5,16 48,92±1,88	468 292

Frekvencija kožnih simptoma, za koje se smatra da su posljedica deficita A vitamina, veća je u Ravnoj Gori nego u Brinju, iako su vrijednosti A vitamina u hrani u skladu s preporučenim dnevnim potrebama.

Učestalost rahitisa u oba mjesta vrlo je visoka (Tablica 11), a neznatno je viša u Brinju. Kod velikog broja djece zapažen je veći broj simptoma preboljelog rahitisa. S obzirom na zadovoljavajuće količine kalcija u hrani i namirnicama koje služe kao izvor D vitamina (mlijeko, mliječni proizvodi, jaja) i dovoljne insolacije u tim krajevima očekivao bi se manji broj rahitične djece. Upada u oči navika majki da djecu ostavljaju u kući i vrlo malo izlažu suncu.

Iz tablice 12 vidi se da je učestalost gušavosti u Brinju veća u svim dobnim skupinama. Uglavnom su to blago povećane štitičače, a u Ravnoj Gori zapažen je i veći broj strume II stepena.

Sadržaj joda u vodi za piće u oba mjesta približno je jednak. U Brinju voda sadržava 2.0 gama J/l, a u Ravnoj Gori 2.5 gama J/l. Obje vrijednosti su veoma niske, tj. ispod prosječne vrijednosti u NRH (19) i pokazuju jaču strumogenost terena.

Fluor u vodi za piće u oba mjesta jako je ispod optimalne vrijednosti, koja bi prema novijim istraživanjima mogla smanjiti frekvenciju zubnog karijesa. U Brinju voda sadržava 200 gama F/l, a u Ravnoj Gori 150 gama/l.

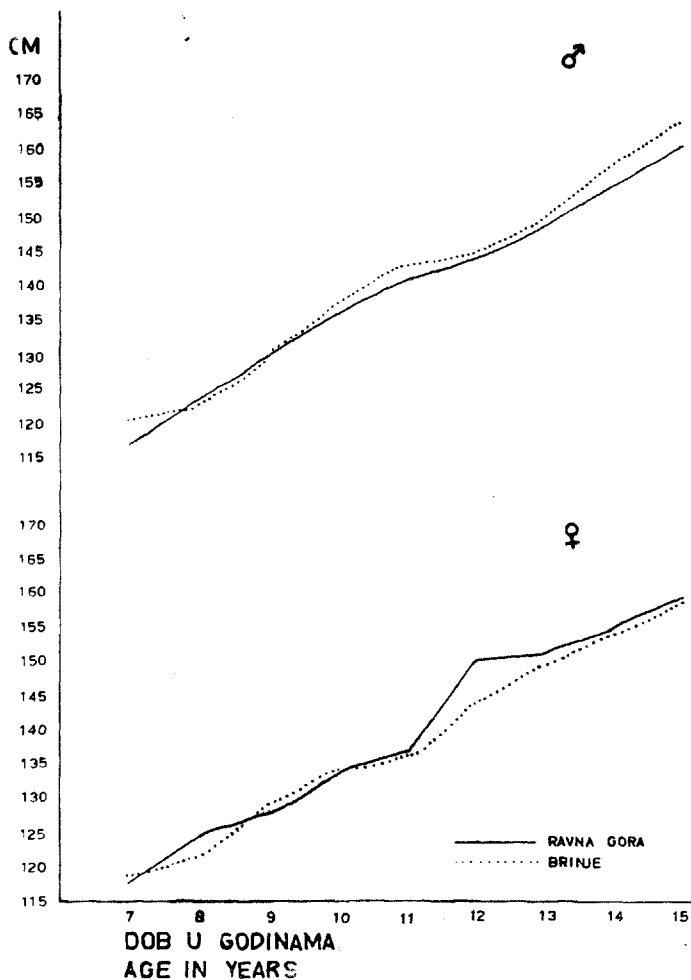
Voda je u Brinju tvrda (9,5° njemačkih) od vode u Ravnoj Gori (1,6° njemačkih) te bi se prema tome u Ravnoj Gori moglo očekivati bolje iskorištavanje raspoloživog fluora, s obzirom na to da fluor ion sa  $Ca^{++}$  stvara teško topivi  $CaF_2$ .

Nivo hemoglobina kod djece u Ravnoj Gori i Brinju približno je jednak (Tablica 13). U starosti od 7–15 godina vrijednosti hemoglobina uglavnom mnogo ne variraju i nalaze se u granicama vrijednosti koje smo našli kod djece iste dobi u većem broju naših anketnih ispitivanja u NRH (20).

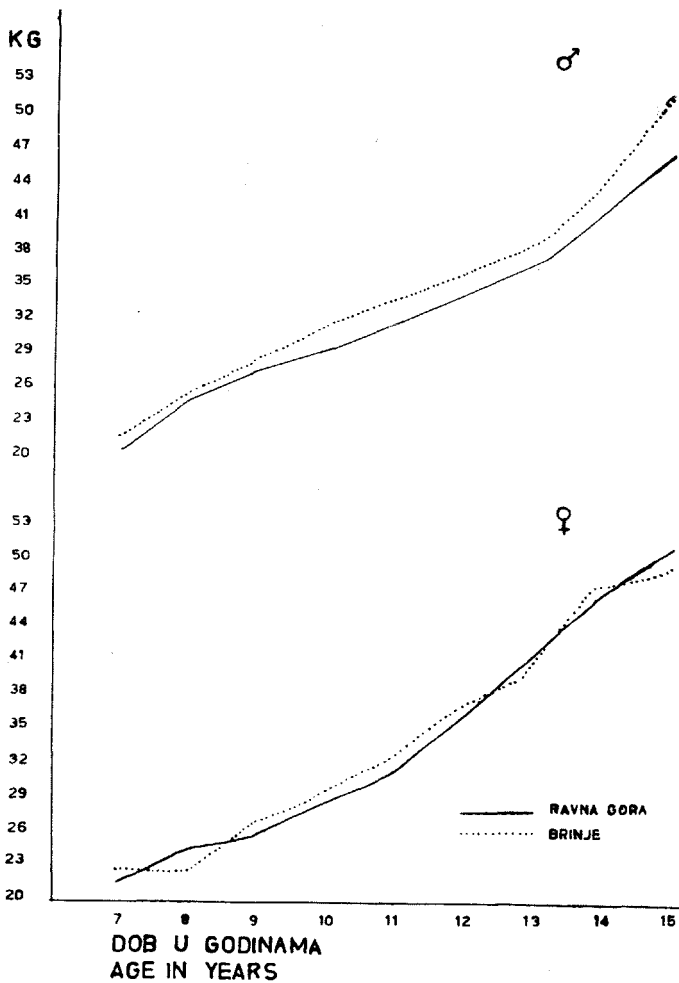
Visoki sadržaj C vitamina u hrani reflektira se i u visokom nivou askorbinske kiseline u krvi ispitane djece. Normalne osobe, čija su tkiva zasićena askorbinskom kiselinom, imaju 1.0 do 1.2 mg C vitamina (100 ml ukupne krvi). U našim ispitivanjima prosječni sadržaj C vitamina u krvi kod djece u Ravnoj Gori koja su imala promjene na gingivi iznosio je 1.44 mg/100 ml, a kod kontrolne grupe ta je vrijednost iznosila 1.66 mg/100 ml. U Brinju su nađene slične vrijednosti. Grupa djece s gingivitisom imala je 1.42 mg/100 ml, a kontrolna grupa 1.45 mg/100 ml (Tablica 14). Sve su te vrijednosti zadovoljavajuće i u skladu s rezultatima ankete prehrane, prema kojoj je dnevno primanje C vitamina u Ravnoj Gori 96 mg u prosjeku, a u Brinju 101 mg.

Kao što smo već naveli, kod većine gingivitisa postojao je lokalni etiološki faktor upale. Gingivitis nađen kod djece bez lokalnog uzroka upale ne može se dovesti u vezu s pomanjkanjem askorbinske kiseline, jer je i najniža nađena vrijednost C vitamina u krvi unutar granica normalnih vrijednosti.

Grafikon 2 - Tjelesna visina školske djece  
Height of school children



Grafikon 3 - Tjelesna težina školske djece  
 Body weight of school children



Tablica 11 - Učestalost rahitisa (%) kod školske djece u Ravnoj Gori i Brinju  
 Table 11 - Incidence of rickets (%) in school children at Ravna Gora and Brinje

Dob u godinama Age in years	7		8		9		10		11	
Spol Sex	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F
Ravna Gora	68.0	68.0	82.7	73.3	86.6	65.2	65.3	40.9	45.2	51.2
Brinje	77.7	68.4	84.8	63.1	66.6	81.2	64.4	44.4	77.7	43.8
Dob u godinama Age in years	12		13		14		15			
Spol Sex	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F		
Ravna Gora	55.5	33.3	31.0	30.4	38.4	38.8	56.2	27.1		
Brinje	55.0	36.4	66.6	31.2	69.2	18.1	90.0	28.5		

Tablica 12 - Gušavost (%) kod školske djece u Ravnoj Gori i Brinju  
 Table 12 - Gaitre (%) in school children at Ravna Gora and Brinje

Dob u godinama Age in years	7		8		9		10		11	
	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F
Ravna Gora Struma I Struma II	44,0	40,0	44,8 3,4	40,0	26,6 10,0	31,0 6,8	57,7 7,7	45,4 4,5	48,4 6,4	46,4 6,6
Brinje Struma I Struma II	61,0	55,5	62,5	63,1 5,2	58,3	62,5	42,8 14,3	55,5	55,5 5,5	62,5

Dob u godinama Age in years	12		13		14		15	
	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F	M M	Ž F
Ravna Gora Struma I Struma II	51,9 3,6	62,9 3,7	47,6 6,8	44,4 8,8	64,0 4,0	61,2 3,2	43,1 6,2	36,3
Brinje Struma I Struma II	80,0	45,4 9,0	61,1 5,5	68,7	53,8 15,4	54,5 18,1	40,0 10,0	28,5

Rezultati ankete prehrane pokazuju potpunu izbalansiranost u kvalitativnom i kvantitativnom pogledu, s izvjesnim energetskim razlikama i razlikama u strukturi potrošnje u Ravnoj Gori i Brinju.

S obzirom na povezanost deficitarne prehrane i predispoziciju za karijes, treba istaknuti da ni u jednom od anketiranih mjesta nismo našli deficit kalcija, fosfora i vitamina. Međutim potrebno je upozoriti na neke razlike u prehrani anketiranih mjesta, koje bi mogle imati izvjestan utjecaj na razvoj karijesa. U Brinju je dnevni energetski prihod u prosjeku veći za 500 kalorija, a potrošnja mesa je za oko 50% veća od potrošnje u Ravnoj Gori. U Ravnoj Gori se uglavnom troši bijeli kruh, a u Brinju pretežno crni. Činjenica da u Ravnoj Gori djeca svakodnevno troše u međuobrocima veće količine bombona pokazuje veću mogućnost djelovanja razgradanih ugljikohidrata na zubnu caklinu.

Rezultati potrošnje živežnih namirnica i pojedinih metabolita predstavljaju prosjek za sve dobne skupine anketiranih domaćinstava. Prema tome ne raspoložemo posebnim podacima o prehrani dojenčadi i specifičnoj prehrani žena za vrijeme trudnoće, koji bi mogli pokazati utjecaj prehrane na zub u razvoju.

Velik broj rahitisa odgovara nadevoj učestalosti rahitisa u ostalim krajevima NRH. Znatno broj registriranih hipoplazija zubi može se smatrati manifestacijom ranog rahitisa.

Veći broj gingivitisa u Ravnoj Gori uzrokovan je lokalnom iritacijom, a za preostale slučajeve nemamo etiološkog objašnjenja. Upalne promjene na zubnom mesu školske djece u Brinju također su isključivo posljedica lokalne iritacije. Nivo C vitamina u krvi pokazuje da se u dovoljnoj mjeri resorbira iz hrane pa se promjene na gingivi ne mogu dovesti u vezu s deficitom askorbinske kiseline.

Zapaženi su i pojedini simptomi oboljenja vezanih uz manjak vitamina A i B kompleksa, iako anketa prehrane ne pokazuje nedostatak tih zaštitnih metabolita.

Učestalost gušavosti u skladu je s niskim sadržajem joda u pitkoj vodi i karakterizira ovaj kraj kao područje endemske gušavosti.

Razliku učestalosti zubnog karijesa u Ravnoj Gori i Brinju ne možemo objasniti razlikama u opskrbi fluorom, jer je nivo fluora u oba mjesta jednak i veoma nizak.

U prehrani također nema znatnijih razlika kojima bi se mogla razjasniti veća frekvencija karijesa u Ravnoj Gori. Ne može se sa sigurnošću tvrditi da je veća potrošnja bijelog kruha i bombona toliko bitna za veću učestalost karijesa u Ravnoj Gori, iako ih se smatra značajnim u etiologiji zubnog karijesa. Odgovor na pitanje kolik je utjecaj drugih, neispitanih faktora, iziskuje dalje ispitivanje.

*Tablica 13 - Vrijednost hemoglobina školske djece (7-15 godina) u Ravnoj Gori i Brinju (M ± SD)*  
*Table 13 - Hemoglobin Levels in school children (7-15 years) at Ravna Gora and Brinje (M ± SD)*

Dob u godinama Age in years		7	8	9	10	11					
		N	N	N	N	N					
Ravna Gora	M	13	11.66±0.68	21	11.99±0.68	27	11.61±0.63	23	12.45±0.77	29	12.30±0.71
	F	17	12.03±0.64	5	11.99±0.40	25	12.03±0.52	15	12.01±0.74	28	12.21±0.65
Brinje	M	16	12.05±0.70	20	11.63±0.84	11	11.97±0.80	13	12.24±0.80	18	12.23±1.00
	F	11	11.86±0.76	12	12.64±1.08	11	12.08±0.82	7	11.93±0.89	14	12.13±0.82
Dob u godinama Age in years		12	13	14	15			Ukupno Total			
		N	N	N	N			N			
Ravna gora	M	27	12.38±0.68	21	12.69±0.84	16	12.91±0.71	15	12.69±0.79	192	
	F	25	12.46±1.69	25	12.60±0.71	25	12.49±0.94	11	12.54±0.96	176	
Brinje	M	19	12.37±0.90	18	12.59±0.81	13	12.80±1.11	10	13.48±0.73	138	
	F	17	12.49±1.05	16	12.43±0.74	11	12.95±0.64	7	12.72±0.54	106	

Tablica 14 - Srednja vrijednost C vitamina u krvi  
 Table 14 - Mean value of vitamin C in blood  
 (mg/100 ml)

	Grupa s promjenama na gingivi Group with Changes in the Gums		Kontrolna grupa Control Group	
	Srednja vrijednost Mean	Mean Raspon Range	Srednja vrijednost Range	Raspon Range
Ravna Gora	1,44	1,16--1,97	1,66	1,48--1,97
Brinje	1,42	0,91--1,87	1,45	1,21--1,64

## LITERATURA:

1. *Mellauby M. and Coumoulos H.*, Teeth of five-year old London school children. *Brit. Med. J.* 2:565, 1946.
2. *Leicester H. M.*, Biochemistry of the teeth, C. V. Mosby, St. Louis, 1949.
3. *Colyer J. F. and Sprawson E.*, Dental surgery and pathology, Longmans, Green and comp. London, New York, Toronto 1946.
4. *Bunting R. W.*, Oral hygiene and preventive dentistry, H. Kimpton, London 1950.
5. *Boyd J. D. and Cheyne V. D.*, To what extent does fluorine ingestion lessen tooth decay. *J. Pediat.* 29: 286, 1946.
6. *Ritterman V., Erak R.*, Liječnički vjesnik 74: 159, 1952.
7. *Tomić D., Ritterman V., Erak R.*, Folia stomatologica, 10: 85, 1949.
8. *Ritterman V.*, Izvanredno izdanje Farmakološkog instituta u Zagrebu, 7: 39, 1953.
9. *Ritterman V., Tomić D.*, Liječnički vjesnik, 70: 409, 1948.
10. *Ritterman V.*, Neobjavljeni rezultati.
11. *Medarac S.*, Kalorične tablice vitamini i minerali 1959, Beograd, Jugoslavenski crveni krst.
12. *Ferber E., Buzina R.*, Prehrana i njezin utjecaj na zdravlje seljačkog stanovništva u NRH 1957, Zagreb, Komnis.
13. *Perez C. N., Scrimshaw S. and Munoz J. A.*, Endemic Goitre 1960, Geneva, WHO.
14. *King E. J., Gilchrist M.*, Lancet, 252: 201, 1943.
15. *Roe J. H., Kuether C. A.*, J. Biol. Chem., 147: 339, 1953.
16. *Standard Methods for the Estimation of Water, Sewage and Industrial Wastes.* 10-th Edition 1955, New York, Federation of Sewage Works Association str. 99.
17. *Betz J. D., Noll C. A.*, J. Am. Water Works, Assoc., 42: 49, 1950.
18. *Rogina B., Dubravčić M.*, Analyst, 78: 594, 1953.
19. *Horvat A., Mikić F.*, Biol. Glasnik, 43: 275, 1960.
20. *Ferber E., Buzina R., Maver H.*, Higijena, 10: 192, 1958.

Iz Stomatološke klinike Medicinskog fakulteta  
i Republičkog zavoda za zaštitu zdravlja,  
Zagreb.

Primljeno na sjednici Odljela za medicinske nauke od 3. VII 1963.

## POKUŠAJ DOKAZA IMOBILIZINA U ŽARIŠTU PRIMOINFEKCIJE KOD SIFILISA KUNIČA

### I. IMOBILIZINI U REAKCIJI IMOBILIZACIJE TREPONEME PALIDE PO NELSONU I MAYERU

(reakcija I. T. P.)

Kod sifilisa kao i kod mnogih drugih mikrobnih oboljenja stvara se više vrsta antitijela, od kojih je svako zasebno usmjereno na određenu antigenu frakciju u strukturi uzročnika bolesti (na proteinsku, polisaharidnu, lipidnu frakciju ili na njihove međusobne spojne produkte). Djelovanje tih antitijela je različito. Iako se vežu i neutraliziraju pojedine antigene komponente u treponemi palidi nijedno od njih -- kao ni zbiru svih zajedno -- nije svojstveno da djeluju treponemicidno in vivo kod sifilisa čovjeka. Antigenitet nerazgrađenog i neokrnjenog mikroorganizma nije identičan sumi njegovih antigenih komponentata (GOTTRON, SCHÖNFELD, 1961). Antilipoidna, antiproteinska, antipolisaharidna antitijela -- bez obzira na to stvaraju li se procesom imunizacije apatogenih ili patogenih treponema, litičnih ili zdravih organa -- ne uništavaju in vivo, kao ni u pokusu in vitro virulenciju i patogenu moć blijedih treponema. Jedinu iznimku u tom pogledu pokazuju specifična imobilizirajuća antitijela u spoju s aktivnim komplementom in vitro. Serum litičara u kojem ima imobilizina djeluje direktno treponemicidno uz uslov da je prisutan i komplement. Ta su antitijela ujedno i jedina supstancija u serumu koja je sposobna da specifično senzibilizira uzročnika sifilisa. Nakon toga vezanje s molekulom komplementa dovodi do njegova letalnog završetka.

To »zaštitno« svojstvo krvi litičara primijetio je već 1921. god. EBERSON (serum kasnog litičara inkubiran sa živim treponemama dva sata štiti je kunića od zaraze). Kasniji radovi TANIA (1935), a naročito TURNERA (1939. i 1948. »protection test«) dali su potpunije eksperimentalne dokaze o postojanju tih zaštitnih humoralnih tvari.

No tek 1949. god. kada su NELSON i MAYER objavili metodu dokaza specifičnih antitijela spoznalo se da je zaštitno svojstvo krvi vezano uz prisutnost imobilizirajućih antitijela (seroprotektivno antitreponemno svojstvo spoja antitijelo-komplement u reakciji I. T. P. po THOMPSONU, GREENBERGU i MAGNUSONU, 1950). To se svojstvo krvi očituje samo in vitro, dok prisutnost imobilizina u živom organizmu ne zaštićuje domaćina od nove zaraze. Takav je fenomen poznat i u ostalim područjima opće biologije: npr. iako normalni psi posjeduju u serumu izraziti rabioidni faktor, ipak mogu oboljeti od bjesnoće.

Metodom frakcionirane precipitacije i elektroforezom nadeno je da se imobilizini nalaze u gamaglobulinskoj frakciji serumskih bjelancevina, te da nemaju ništa zajedničkoga s antilipoidnim reaginskim antitijelima. Adsorpcijom reagina iz seruma (NELSON, DIESENDRUCK, ZHEUTLIN) ili metodom diferenciranog ultracentrifugiranja moguće je odijeliti imobilizinska antitijela od reaginskih, koja kao specifički lakša ostaju na površini (VAISMAN, HAMELIN). U pepelu ili ultrafiltriranom serumu imobilizini nisu nadeni. Relativno su termostabilni budući da zadržavaju aktivnost i pri zagrijavanju do +70, odnosno +72° C u roku od 10 minuta.

Podrijetlo imobilizina treba tražiti, kao i kod drugih imunih tijela u limfoidnom tkivu (limfni čvorovi, slezena, timus). Tu teoriju stvaranja normalnih i imunih gama-globulina u limfoidnom tkivu, koji međusobno ne pokazuju ni antigenih, ni fizikalnih razlika, formulirao je BUNTING još 1925. god. Savremene tehničke metode ispitivanja antitijela primijenjene naročito poslije drugog svjetskog rata, kao što je markiranje s radioaktivnim izotopima, vezanje s fluorescentnim bojama, mikromorfološke studije pod elektronskim mikroskopom, histokemijske metode i sl. tu su teoriju potvrdile. Eksperimentalno ubrizgan antigen dovodi u životinja do hiperplazije regionalnih limfnih čvorova, koji izbacuju mnogo limfocita u eferentne limfne žile. U takvim povećanim čvorovima i njihovim izlaznim žilama nalazi se uvijek više antitijela negoli u krvi ili u aferentnim limfnim putovima ili u ostalim limfnim čvorovima. Mnogostrano ispitivanja, osobito američkih istraživača (HARRIS, GRIMM, MERTENS, EHRICH, McMASTER i KIDD i dr.), pokazala su da se sinteza globulina vrši u limfocitima, iz kojih se izlucuju u limfni tekućinu (obrnuti je put dokazano isključen: limfociti nisu u mogućnosti da adsorbiraju globuline iz tekućina). Po drugim autorima međutim, naročito onima iz skandinavskih zemalja, globulini se stvaraju u plazmatskim stanicama, a ne u limfocitima. Zato govore pokusi s kulturom tkiva imuniziranih životinja, kao i nalazi u fazonu i fluorescentnom mikroskopu. Danas su još uvijek podijeljena ta dva stajališta o podrijetlu antitijela. Taj se problem komplicira još i činjenicom da među limfocitima - tim >tkivnim stanicama na prolazu kroz krv< (GRUNDMANN, 1960) imade 25% tzv. pulpa-limfocita ili sinus-limfocita, koji su funkcionalno vrlo bliski plazma-stanicama. I inače je poznato da limfociti lako mijenjaju svoju strukturu, pa i mehanizam diobe, i da se rado transformiraju u druge stanice.

No mikroorganizmi ne mogu biti razgrađeni u antigene komponente izravno u limfocitima ili plazma-stanicama, budući da su »okrugle« stanice siromašne na protoplazmi, pa ne posjeduju svojstva fagocita. Preradu mikroba vrše polinuklearni leukociti ili preformirane stanice retikulohistiocitarnog sistema, koji su aktivni fagociti, makrofagi, i kojima je zadaća da probavljaju stranu materiju. Ta je pojava utvrđena i optički radioizotopnim markiranjem bakterija. Tek se nakon toga osloboda antigen, koji dospijeva u »okrugle« stanice gdje inducira tvorbu antitijela. Izbacivanjem iz stanica, odnosno sekrecijom antitijela upravlja kasnije hormon nadbubrežne žlijezde, a indirektno i hormon prednjeg režnja hipofize, koji aktivira koru suprarenalke.

Taj mehanizam stvaranja antitijela svojstven je i sintezi imobilizina. U fagocitima probavljeni uzročnici sifilisa raspadaju se u pojedine antigene frakcije, od kojih je proteinski dio odgovoran za stvaranje specifičnih

antitijela. Za razliku od drugih antitijela u tečaju licične zaraze imobilizini se javljaju najkasnije u optoku krvi i samo izuzetno npr. kod reinfekcije mogu prethoditi reaginima ili antipirohetnim antitijelima. Njihov dokaz u serumu omogućuje još danas jedino reakcija imobilizacije treponeme palide po NELSONU i MAYERU. Rezultati te reakcije zavise od posebnih svojstava žive treponeme palide standardnog NICOLSOVA soja koje ona pokazuje in vitro u nazočnosti specifičnog antitijela i određene količine aktivnog komplementa. U takvoj sredini treponema, - inače veoma živo pokretna - postaje postepeno sve »umornija« i konačno nepokretna, imobilna. Njena smrt, odnosno gubitak motiliteta služe kao optički fenomen prikladan za mikroskopsko čitanje. Taj proces imobilizacije, odnosno specifične smrti, događa se jedino u prisutnosti komplementa. Funkcija imobilizina sastoji se samo u senzibilizaciji uzročnika, koji ga morfološki ne mijenja ako gledamo u tamnom polju običnog mikroskopa, no u elektronskom mikroskopu opažaju se fine strukturalne promjene (GREFFELD, 1954). Senzibilizirane treponeme imaju jednako živu lokomotornu aktivnost kao i nesenzibilizirane, one zadržavaju virulenciju i patogeno svojstvo, iako u okrnjenom stepenu, budući da ipak dožive izvjesne promjene funkcionalne naravi (ometan metabolizam po FRIBOURG-BLANCU, 1956). Senzibilizacija je posljedica polaganog ali solidnog, trajnog i ireverzibilnog vezanja imobilizina na tijelo treponema. Jaka pozitivno izačena taksija je kao neki specifični afinitet imobilizina za kemijsku strukturu treponema bez obzira na sredinu u kojoj se nalaze (u tkivnim sokovima, limfnoj, krvnoj ili likvorskoj tekućini, in vivo kao i in vitro). Tek djelovanjem aktivnog komplementa nastaje definitivno biološko oštećenje mikroorganizma, koji kod određene koncentracije komplementa najprije gubi virulenciju (nakon 6 sati), a tek onda motilitet (nakon 18 sati). Posljednja faza je liza treponema (nakon 48 sati). Fizikalno-kemijski mehanizam fiksacije imobilizina i način intervencije komplementa nisu razjašnjeni, kao ni tačniji mehanizmi kod drugih reakcija te vrste. Po mišljenju FRIBOURG-BLANCA čini se da treponeme ugibaju od asfiksije, a ne od intoksikacije zbog čega im je umiranje polagano i progresivno.

Pretpostavlja se da je za proces specifične smrti potrebna neka određena »toksična« doza imobilizina (tzv. vezanj imobilizini) kako bi sudjelovanjem komplementa došlo do imobiliziranog efekta. Već je MAYER smatrao da je za smrt jedne treponeme potrebno više molekula imobilizina. Vjerojatno postoje i individualne razlike među mikroorganizmima vezane na razvojni stadij ili starost generacija, manji ili veću vitalnu otpornost, različito intenzivan metabolizam i sl., a ne može se odbaciti ni mogućnost da neke treponeme a priori posjeduju jače, a neke slabije izražen afinitet za specifična antitijela. Tako bi za smrt jednih treponema bila potrebna senzibilizacija s manjim brojem molekula imobilizina nego li za druge. U svakom se slučaju mora računati s određenom srednjom i optimalnom senzibilizacijom, koja uz sudjelovanje komplementa dovodi do specifične smrti.

Antigen koji se upotrebljava u reakciji I. P. T. suspenzija je živih treponema u NELSONOVOM mediju. Te su treponeme kultivirane u spolnim žlijezdama živih kunića, pa su prema tome već in vivo izložene djelovanju nespecifičnih, a kasnije i specifičnih obrambenih produkata inficirane životinje. Posve je razumljivo da i kunići kao živa bića reagiraju individualno različito na infekciju blijedom treponemom. Iz toga je shvatljivo zašto kod zaraze s jednakim brojem uzročnika (iz istog izvora i na jednaki način unesenoga) kunići pokazuju različite kliničke promjene i raznoliko reagiraju u imunološkom pogledu. Kod nekih se imobilizini stvaraju ranije, a kod nekih kasnije. No čim se u životinji stvore specifična antitijela, ona se odmah in vivo fiksiraju na bljede treponeme. U početku zaraze broj molekula imobilizina nije još velik, a nije ni ravnomjerno raspoređen na treponeme. No kako se s vremenom stvara sve veća količina antitijela, određenog dana bit će sve treponeme zasićene, odnosno optimalno senzibilizirane.

Već je NELSON u svojim prvim radovima upozorio, a poslije njega potvrdili su to i drugi autori, da se kao antigen u reakciji I. T. P. ne mogu upotrijebiti treponeme koje su već u kuniću senzibilizirane; jer bi reakcija u takvu slučaju i kod zdravih i nelučnih ljudi bila pozitivna. Predviđen je zato maksimalan broj dana zaraze kod kunića, vremenski interval u kojem je još moguće upotrijebiti antigen iz sifilitičnog orbitisa bez bojazni za njegovu valjanost. Taj vremenski razmak treba prema propisima obuhvatiti samo prvih 11 dana zaraze, odnosno mora biti potvrđen kliničkim nalazom i palpacijom ranog specifičnog orbitisa (NELSON, DUREL, SAUSSE, MEINICKE i dr.). Iznimno je u tom pogledu mišljenje FRIBOURG-BLANCA koji smatra da se antitijela u spolnim žlijezdama zaraženih kunića nikada ne mogu naći prije 12 dana zaraze, a primjetljivu količinu da postižu tek oko 14. dana. Treba, međutim, uzeti u obzir individualno različite imunološke sposobnosti svake pojedine životinje kao i razlike s obzirom na broj unesenih mikroorganizama. Isto tako treba priznati da je teško i riskantno određivati robove u danima za neku biološku pojavu te vrste za koju je u biti odgovoran čitav niz različitih faktora. Samo se općenito može uzeti da su treponeme koje potječu od kunića s infekcijom mladom od 11 dana uz propisani klinički nalaz testisa optimalne kvalitete za reakciju, a kasnije da je ta garancija sve manja. Empirija uči da treponeme u spolnim žlijezdama kunića čija je zaraza stara 9 ili 10 dana ili manje od toga mogu biti već djelomično senzibilizirane iako klinički u to vrijeme još ne mora biti palpatorne rezistencije testisa. U toj činjenici treba tražiti glavni razlog zašto je vrijednost i uporabivost antigena za reakciju I. T. P. često problematična.

Pri čitanju rezultata reakcije I. T. P., broji se pretežno prvih 25 treponema i živih i imobilnih na koje se naiđe, a može i 50. Prema originalnim propisima rezultati se tumače ovako: ako specifična imobilizacija u kvalitativnoj probi iznosi više od 50%, reakcija se ocjenjuje kao pozitivna, ako je broj uginulih treponema između 20–50% reakcija je dvojberna, a između 0–20% negativna. Već se iz toga vidi da je interpretacija rezultata u izvjesnom pogledu nejasna. Ako naime prisutnost imobilizina u

nekom uzorku treba biti specifičan dokaz za ličnu zarazu (makar se radilo i o najmanjim količinama), postavlja se pitanje zašto nalaz od 20 do 50% specifične imobilizacije nosi biljeg neodređene i dvojbene oznake, dok nalaz od 51% već ima pravo na konkretnu pozitivnu ocjenu? Čini se da se sva delikatnost NELSONOVA testa ogleda u toj interpretaciji rezultata. Dokažu li se u nekoj ispitivanoj tekućini imobilizini u stopostotnoj količini, jasno je da se radi o nedvoumno pozitivnoj reakciji na sifilis. Nema li u ispitivanom uzorku imobilizina, rezultat je isto tako jasno negativan. Takvu skupu rezultata na sreću pripada ogromna većina pretraživanih ljudskih seruma. I dvojbene je rezultate lako shvatiti kada u doba svježe zaraze sifilison ili u tečaju njegova liječenja količina imobilizina u krvi postepeno raste ili postepeno pada. U tim se slučajevima neko vrijeme u krvi nalaze male i neznatne količine specifičnih antitijela. Kad reakcija I. T. P. pri utvrđenom sifilisu pada u zonu između 20-50% specifične imobilizacije, znači da je reakcija ili tek postala pozitivna (vrijeme produkcije imobilizinskih antitijela u recentnom stadiju sifilisa), ili je još uvijek pozitivna (vrijeme redukcije u stadiju regresije luesae). To je u stvari slabo pozitivna reakcija na specifična antitijela i samo potvrđuje dijagnozu sifilisa.

No ako se isključe slučajevi sifilisa s malim količinama imobilizina, ostaje jedan postotak makar i malen dvojbenih rezultata, onih dvojbenih u pravom smislu te riječi kod kojih nije moguće doznati da li su te male količine rezultat stvarne prisutnosti imobilizina u ispitivanom uzorku ili su dokaz senzibilizacije treponema u antigenu, koja se je odigrala već in vivo u kuniću? Pa i kod negativnog rezultata dopušta se smrt treponema do 20%, što znači da na 100 treponema smije uginuti 20 iz nespecifičnih razloga. Treba uvijek misliti i na spontanu imobilizaciju, koja može iznositi oko 10%, a koja nije specifična« navode DUREL i sar. (1951), a na isto upozoravaju i drugi (BELLONE e BONELLI, FRIBOURG-BLANC, 1956). Do oštećivanja treponema može naime doći tokom izvedbe same reakcije zbog kakve minimalne arteficialne agresije npr. kod grubljeg rezanja i gnječenja tkiva testisa, toksičnog djelovanja stanične protoplazme ili kisika iz zraka, prigodom vrtnje u centrifugi i sl., a može nastati i in vivo u kuniću djelovanjem njegovih nespecifičnih obrambenih produkata ili djelovanjem sistema properdina u serumu (FRIBOURG-BLANC, 1956, PILLEMER i sar. 1954). Ako se dozvoljenom postotku nespecifične smrti treponema doda samo malen postotak nastao iz specifičnih razloga, onda se imobilizacija lako može podići iznad 20%, te ući u neodređen i dvojben rezultat, a isto tako može postati i pozitivna. Ta se pojava varijabilnosti osobito ističe pri ujeranju titra imobilizinskih antitijela u nekom pozitivnom serumu. Ima i drugih uzroka - izvan antigena - za slabije življenje treponema u pokusnoj epruveti (Nelsonov medij ima vrlo uzak izotonicitet i vrlo uzak pH - male varijante dovode do velikih posljedica), a svi uzroci nisu poznati općenito. Treba imati u vidu da je ishod specifične imobilizacije funkcija više faktora. Tako je on funkcija trajanja reakcije (što je veći titar imobilizina inkubacija je za imobilizaciju treponema kraća i obrnuto), funkcija temperature (iznad 36° C

nastaje termički uslovljena nespecifična smrt nekih treponema, ispod 35° C afinitet antitijela postaje sve manji), funkcija koncentracije antitijela, ovisan je o kvantiteti i kvaliteti upotrijebljenog komplementa kao i o broju treponema u antigenu. Svi se ti faktori međutim daju uskladiti i standardizirati. NIELSEN (1957) koji je vrlo minuciozno studirao reproduktivnost I. T. P. testa, naročito što se tiče osjetljivosti antigena pretpostavio je čak da bi antigena suspenzija mogla sadržavati i fragmente senzibiliziranih treponema, kao i različite topive antigene komponente, koji bi također mogli vezati antitijela. Tako bi se u treponemnoj suspenziji mogle naći različite koncentracije antigena, koje se brojenjem treponema ne bi mogle ni naslutiti, ni kontrolirati! Ipak pri optimalnom preživljenju treponema u kontrolnim epruvetama nastoji se varijabilnost ponekih reakcija tumačiti različitim stupnjem senzibilizacije uzročnika sifilisa in vivo u kuniću.

Poznato je da količina imobilizina progresivno raste starenjem litične zaraze. Na samom početku oboljenja kunić posjeduje neznatne vrijednosti specifičnih antitijela, koje se zbog jako izraženog afiniteta spram uzročnika sifilisa vežu samo na neke mikroorganizme, dok drugi ostaju još izvjesno vrijeme slobodni i netaknuti. Možemo računati npr. da u jednoj autigenoj suspenziji s generacijama treponema od samo 5 do 7 dana još nema ni jedne molekule vezanih imobilizina, no već idućeg dana da treponeme mogu biti djelomično i neravnomjerno blokirane. Na taj se način može dogoditi da opetovanom pretragom istog uzorka jedne nereaktivne krvi s antigenom u kojem su generacije treponema stare različiti broj dana, odnosno nejednako senzibilizirane, dobivamo jednom postotak specifične imobilizacije od 0 do 20, ali i preko toga. Računajući da je raspodjela imobilizina u antigenu neravnomjerna (zakon slučajja), te da na nekim treponemama imađe veći, a na drugima manji broj molekula antitijela, dok su treće još posve slobodne – može se u reakciji I. T. P. na nereaktivnom serumu uz nespecifično ugibanje očekivati i specifična smrt treponema zbog unesenih imobilizina iz kunićeva tijela. Ta okolnost ne smeta dok postotak specifične imobilizacije ne prelazi 20. Ukoliko je prije, treba priznati da postaje nejasno, dokazuju li se zapravo imobilizini u ispitivanom uzorku, ili u antigenu!

Već smo prije napomenuli da je za specifičnu smrt potrebna optimalna senzibilizacija koja se nalazi – recimo kod treponema čije su generacije stare 8 dana – samo na malom broju u suspenziji, kod 9 dana starih već na dvostruko većem broju, kod 10 dana starih na trostruko većem itd. Svakim danom raste broj optimalne senzibilizacije u kuniću, koja in vitro reagira u prisutnosti komplementa imobilizirajuće. Vrlo je vjerojatno da se u onih 20% dozvoljenog mortaliteta jedan dio odnosi na propadanje zbog specifične smrti.

U vidu takve koncepcije shvatljivo je da se u nekoj negativnoj krvi može naći veći ili manji postotak imobilnih treponema kod primjene različitih antigena, pa se rezultati po postotku specifične imobilizacije mogu kretati u granicama između posve negativne, dvojbene i jasno pozitivne reakcije (NELSON, DIESENDRUCK, 1951). Kada bi se veća ili manja količina

proizvedenih antitijela u kuniću ravnomjerno i podjednako dispergirala na treponeme u specifičnom orbitisu, onda bi u istom pokusu reakcije I. T. P. izvedene s jednim antigenom zdravi ljudi morali biti ili svi negativni ili svi dvojni ili svi pozitivni, već prema stepenu senzibilizacije. Iskustvo je međutim pokazalo da to nije slučaj. U pokusu kojim se ispituje isti uzorak nereaktivne krvi u nizu epruveta mogu svi dati čisti negativni rezultat, osim jednoga koji će pokazivati dvojbenu reakciju, odnosno lažno pozitivnu. Već u idućem pokusu s drugim antigenom ti isti uzorci mogu biti svi negativni, a u daljem ponavljanju trećim antigenom u dvije druge epruvete reakcija može biti dvojbena ili pozitivna. Takva se činjenica može protumačiti – isključivši tehničke greške – samo parcijalnom raspodjelom imobilizina i parcijalnom senzibilizacijom treponema u testisima kunića. S druge strane, izrađivanje reakcije s generacijama treponema starih samo 5–7 dana, kod kojih se pretpostavlja da nema još ni parcijalne senzibilizacije, vodi u opasnost da se negativnim rezultatom označe i oni serumi koji stvarno sadržavaju male količine antitijela. Tako možemo u reakciji I. T. P. govoriti o antigenu koji je premalo osjetljiv i hiposenzibilan, ili dovoljno odnosno supkritično osjetljiv pa i preosjetljiv, hipersenzibilan s kritičnom senzibilizacijom.

Te napomene imale su za cilj da osvijetle delikatnost i poteškoće na koje se nailazi u izrađivanju jedne od najvrednijih reakcija za dijagnozu sifilisa. Srećom nepouzdanih rezultata ima malo pri dobrom i opreznom rukovođenju s pokusima (HARDY, DAGUET, BOREL, DUREL, 1955. i dr.).

## II. POKUŠAJ DOKAZA IMOBILIZINA U ŽARIŠTU PRIMOINFEKCIJE KOD KUNIĆA

S. BERGEL je god. 1930. na osnovi vlastitih ispitivanja došao do zaključka da se nespecifična reaginska antitijela kod sifilisa proizvode »primarno na mjestu ulaska treponemne palide, tj. na mjestu primarnog specifičnog upalnog granuloma, a tek kasnije u stanicama retikuloendotelijskog sistema u čitavom tijelu«. Da se na mjestu primarnog specifičnog upalnog granuloma proizvode antitijela potvrđeno je serološkim ispitivanjima seroznih tekućina u umjetno stvorenim mjehurima na koži negdje u blizini skleroze. U tako provociranim mjehurima nađeni su reagini u vrijeme kada ih još u krvi nije bilo. BERGEL navodi da i tkivna tekućina istisnuta iz primarnog afekta daje mnogo ranije pozitivnu Wassermannovu reakciju negoli krv. U isto vrijeme je i MATSUMOTO iznio da je intenzivna tkivna reakcija na mjestu inokulacije treponema odgovorna za jako pozitivnu Wassermannovu reakciju. To se pokazalo u skladu s pokusima KEMPA, CHESNEYA i POOLA, koji su već 1926. god. našli da kunić s primarnom intratestikularnom inokulacijom, koji je serološki postao jako pozitivan gubi taj pozitivitet čim mu se odstrane inficirane spolne žlijezde. Kasnije – 1950. god. SCHIPPER i CHESNEY izveli su nove pokuse koji govore da stepen pozitivnosti u krvi zaraženih kunića ovisi o opsežnosti i broju vidljivih upalnih lezija. Oni su dodali: »koliko je istina da visi-

na reagina u krvi sifilitičnog kunića ovisi o stepenu sifilitične upale u tkivu – stvaranje reagina mora da se zbiva na mjestu upale.

Kako za specifična antitreponemna antitijela nema u literaturi podataka o primarnom sjedištu njihove proizvodnje, pokušali smo u serodijagnostičkom laboratoriju na dermatovenerološkoj klinici nizom pokusa osvijetliti to pitanje. Osim analogije s reaginima čiji bi izvor na početku zaraze bio vezan na sifilitični infiltrat – istoj pretpostavci za imobilizinska antitijela vodila su i neka iskustva u reakciji I. T. P. Činjenica je naime da se već malo dana nakon intratestikularne inokulacije mogu dokazati u sifilitičnom orbitisu kunića senzibilizirane treponeme, iako u krvi u to vrijeme imobilizina još nema ni u tragovima. Radi se o molekulama imobilizina koji su vezani i fiksirani na tijelo uzročnika sifilisa, čija se fiksacija događa u kuniću (prepoznaje se po općim kontrolama u reakciji I. T. P.). Već je DUREL SA SAR, 1951. god. rekao da senzibilizacija treponema in vivo nastaje vrlo rano i da se razvije prije negoli se antitijela mogu dokazati u krvi. Svoje je mišljenje formulirao ovako: »izgleda da se u dodiru s antigenom in loco morbi stvaraju antitijela određene koncentracije«.

Pokušali smo eksperimentalno na životinjama ispitati da li se imobilizinska antitijela stvaraju na ulaznim vratima sifilitične infekcije u samom primarnom infiltratu ili ne. Na žalost nije nam bilo moguće poslužiti se BERGELOVOM vrlo jednostavnim metodom dokazivanja antitijela u tkivnoj tekućini skleroze ili u seroznom eksudatu artefijelno proizvedenih mjehura kod čovjeka, jer su se tome suprotstavili strogo određeni uvjeti pod kojima se reakcija I. T. P. može izvoditi (nesterilan materijal s ljudskih lezija, toksičko djelovanje farmaka koja izazivaju buli i sl.). Razradili smo zato posebne metode.

#### A) Prva grupa životinja

S jednakom količinom iz istoga uzorka suspenzije živih treponema Nicholsova soja (oko 36 puta  $10^5$  treponema u 1 ml) inficirali smo desnu spolnu žlijezdu skupini od 31 kunića (čimčila rasa, starost 8–10 mjeseci, težina 3–4 kg, svi I.T.P. negativni u krvi prije inokulacije). Druga spolna žlijezda ostala je neinokulirana. Od 9 do 22 dana iza zaraze kastrirali smo dnevno po dva kunića – ukupno njih 26 kroz 13 dana. Prema tome su kastrirane spolne žlijezde bile svakog dana po datumu zaraze za 24 sata starije. Ti su testisi poslužili da ispitamo:

1. ima li u sifilitičnom orbitisu imobilizina fiksniranih na treponeme, odnosno jesu li treponeme u njemu senzibilizirane ili nisu,
2. ima li imobilizina u vodenom ekstraktu oboljelih testisa odnosno u njegovim vezivnim ovojnicama kao i u vodenom ekstraktu nasuprotnih neinokuliranih žlijezda i
3. ima li u optoku krvi na dan kastracije imobilizina ili ne.

Nadali smo se da će ta tri faktora ispitivana i uspoređivana uzastopno 13 dana (26 pokusnih životinja i 5 kontrolnih) dati neke informacije o primarnom sjedištu imobilizina. Starost sifilisa od 9 do 22 dana izabrali smo proizvoljno bojeći se da nam ne izmakne prva i najranija perioda eventualne pojave antitijela in situ. Da bi se osigurala vjerodostojnost rezultata u reakciji I.T.P. i da bi se izbjegle uvijek moguće tehničke greške, poslužili smo se za utvrđivanje senzibilizacije treponema imenovane u tački 1 s tri neutralne tekućine za njihov dokaz. Suspendirali smo naime

treponeme iz svakog kastriranog testisa u fiziološku otopinu kao i u dva negativna ljudska seruma (isti uzorak za pretražu cijele grupe) i s takvim uzorcima izvodili reakciju I.T.P. dodavši samo aktivni komplement. Odmah napominjemo da ni u jednom slučaju nismo dobili neslaganje u sve tri probe ni kod jednog kunića.

Najveće poteškoće imali smo tražeći prikladnu metodu za ekstrakciju tkivnih sokova iz testisa. Pošto je dobiven ekstrakt morao poslužiti za reakciju imobilizacije, morali smo ga imati u određenoj količini (pretrage smo često ponavljali na istom uzorku), trebalo je da bude strogo sterilan i da sadržava sve fiziološke uvjete da bi treponeme preživjele. Zato je bilo potrebno sokove iz spolnih žlijezda propustiti bez posebne obrade kroz jedan sterilizirajući filter. Kad se je u tu svrhu upotrijebila EKS slojnica filter papira u staklenom filtru Fribourg-Blanca, nismo iz razrezanog svježeg tkiva pomoću vakuuma mogli ekstrahirati ništa tekućine, pa ni onda kada smo preljevali tkivo fiziološkom otopinom. Velike molekule bjelančevina – kako smo i očekivali – zadržale su pore filtera i onemogućile ekstrakciju. Gnječiti i drobiti tkivo nismo smjeli, jer oslobođena stanična protoplazma djeluje u reakciji I.T.P. toksično. Iste su se teškoće javile kad smo upotrijebili porculanski filter 17 G 4 (60 mm).

Prešli smo zato na metodu ekstrakcije ne svježeg testikularnog tkiva nego prethodno osušenog u formi tankih lamela. Izrezali smo u kriške testis, sušili ga na zraku pod toplom strujom električnog kalorifera nekoliko sati (6–7 sati). Dobili smo tako suhu i lomljivu organsku materiju koju smo preko noći ostavili u termostatu na 36°C, a zatim je poslali u numerirane epruvete, dobro začepili i stavili u hladnjaču na minus 15°C. Na dan kad smo izvodili pokus reakcije I.T.P., nalili smo 2 ml fiziološke otopine na tako osušeno tkivo, epruvetu smo češće potresali rukom i ostavili stajati na sobnoj temperaturi 1–2 sata. Dodana fiziološka otopina postala je na taj način mutna, a suho organsko tkivo je nabubrilo i izbljedito. Tek takvu tekućinu uspjeli smo propustiti kroz porculanski filter 17 G 4. Tako smo gotovo uvijek dobili dovoljnu količinu vođenog ekstrakta za izradivanje reakcije I.T.P. (0.5–1.0 ml) i samo izuzetno morali smo za vrijeme ekstrakcije dodati još pol ili cijeli mililitar fiziološke otopine. No usprkos jednakom postupku s materijalom od svih kastriranih kunića pokazale su se velike razlike u dohivenoj količini ekstrakta i u njegovoj baji. I brzina ekstrakcije pomoću električne vakuumpumpe bila je različita. Mikroskopskom pretragom u tamnom polju ekstrakta uvjerili smo se u više navrata da kroz filter nisu prolazili cijeli korpusi treponema.

Dva puta na tjedan 59 dana iza zaraze vadili smo kunićima kardijalnom punkcijom krv (oko 5 ml) i pretraživali na imobilizine. Osim toga kontrolirali smo na dane kastracije lokalni klinički nalaz (datum početka akutnog orbitisa, njegovu veličinu, konzistenciju i izgled) uzimali smo komadić tkiva za histološku pretražu (bojadanje s hemalaun-eozinom) i brojili koliko se je treponema razmnožilo in loco morbi u kapi tkivne tekućine inokulirane i neinokulirane strane spolnih žlijezda kao i u suspenziji namijenjenoj kontroli senzibilizacije. Tako vođen pokus dao je ove rezultate:

Morfološke promjene na mjestu inokulacije manifestirale su se klinički progresivnim povećanjem volumena inficiranih testisa i okolnog vezivnog tkiva što je teklo paralelno s porastom broja dana zaraze. Akutni orbitis javio se je prvi put kod kunića koji su već 10 dana imali sifilis. Bilo je u tom pogledu i nekih izuzetaka. Većina je životinja iza 15 dana zaraze imala po nekoliko nekrotičnih, većih ili manjih, žarišta u inficiranoj spolnoj žlijezdi, a kao obligatna pojava javljala se upala vezivnih ovojnica od 10. dana dalje. Mikromorfoloških promjena na neinokuliranoj strani spolnih žlijezda nije bilo (kao ni kliničkih), dok se u inficiranim testisima mogao pratiti progredijentan tečaj specifične upale (sve gušći limfocitarni i plazmocitarni infiltrat, sve bogatija vaskularizacija, u početku samo zadebljanih septula oko tubuli seminiferi i kasnije de-

generativne promjene u tubulima sve do potpunog nestanka svih staničnih slojeva kao i mjestimične nekroze). Nije bez interesa spomenuti da upalni infiltrat nije u početku pokazivao ravnomjernu i difuznu raspodjenu vidljivu u histološkim rezovima, nego žarišnu, što se osobito lijepo vidjelo kod prve polovice kastriranih životinja. Infiltrat je zahvaćao pregrade samo oko nekih tubula u formi izoliranih otočića, dok se uokolo nalazilo još posve normalno žlijezdno tkivo. U takvim su se upalnim centrima opažali svi stepeni degeneracije intertubularno smještenih stanica.

Što se tiče broja treponema ekstrahiranih ad hoc iz komadića testikularnog tkiva, on je bio velik samo na početku zaraze. Kasnije se posve nepravilno izmjenjivao bogati rasplod s malenim i oskudnim sve do posvemašnjeg odsustva treponema poglavito podkraj kastracije. Primijećen je znatno oštećen vitalitet treponema počevši od 15. dana zaraze (nakon inkubacije od 24 sata u reakciji I. T. P. treponeme su progredijentno sve više ugibale), a zadnjih dana bile su već mrtve in vivo. Mnogo ih puta u posljednje dane kastracije nismo našli u tkivu testisa pa izgleda da su bile razgrađene i resorbirane još u kuniću. Svakako su uvjeti za razvoj generacije treponema od 15. dana zaraze bili u testisima sve nepovoljniji. Do smrti treponema došlo je i tamo gdje nije bilo ni makroskopski ni mikroskopski vidljive nekroze tkiva. Zato se nekroza ne može okriviti za oštećenje vitaliteta treponema. Činjenica je da su uslovi za množenje bili u prvih 14 dana zaraze najpovoljniji, a onda je došlo naglo do zastoja i spontanog ugibanja uzročnika sifilisa. Senzibilizacija treponema nađena je 13., 14. i 18. dana iza zaraze sa specifičnom imobilizacijom između 29–55%. Kod svih ostalih kunića iza 15. dana (osim jednoga s 18 dana starom zarazom) reakcija I. T. P. nije mogla biti izvedena, jer su treponeme bile već in vivo u visokom postotku vitalno oštećene. Prema tome najraniji datum za koju nam je uspjelo dokazati da su se u lutičnom orhitisu imobilizini vezali na treponeme bio je 13. dana zaraze.

Reakcija I. T. P. u vodenom ekstraktu lijevih spolnih žlijezda (neinficiranih) nije ni kod jednog kunića otkrila prisutnost imobiliziranih antitijela, uključivši i zadnji dan kastracije. U vodenom ekstraktu inficiranih žlijezda nađena su specifična antitijela u malim količinama (specifična imobilizacija između 23 i 55%, a samo kod zadnjeg kunića 100%) 13., 15., 16., 17., 19. i 21. dana nakon zaraze. Ustanovljena su i u vezivnim ovojnicama otprilike u iste dane i jednako u malim količinama. Tako je najraniji datum kada su dokazani imobilizini u formi nevezanih i slobodnih molekula u ekstraktima inokuliranih spolnih žlijezda pao u isto vrijeme kada i senzibilizacija treponema (vezana antitijela), tj. 13. dana. Reakciju I. T. P. uspjelo je vrlo lijepo i neometano izvoditi na svim uzorcima vodenog ekstrakta i nismo našli na toksične supstancije koje bi je mogle ometati. Zato je smrt u reakciji protumačena kao posljedica specifičnih imunoloških procesa. Treponeme u generacijama od 10 i 11 dana koje smo upotrijebili kao antigen za testiranje ekstrakta ostale su neoštećene u kontrolnim epruvetama i davale su optimalni postotak pre-

življenih. To je bio slučaj čak i kod ekstrakta iz onih spolnih žlijezda u kojima se treponeme zbog vitalnog oštećenja nisu mogle razvijati, pa niti egzistirati.

Tragove imobilizina u krvi našli smo u danc kastracije samo kod kunića u 15, 16. i 21. danu zaraze, a veću količinu kod oba kunića u starosti infekcije od 20 dana. Ni kod jednog od ostalih nije bilo imobilizina u krvi, što znači da je bilo životinja kod kojih nisu dokazani imobilizini u krvi u vrijeme kad ih je bilo in loco morbi.

Na taj način uspjelo je dokazati vezane (na treponemama) i slobodne (pozitivna reakcija I. T. P. u vodenom ekstraktu) imobilizine u ranom orbitisu. Na grafikonu br. 1 (I grupa) prikazali smo međusobni odnos imobilizina u spolnim žlijezdama spram istih u krvi: serološki rezultati in loco morbi i u krvi u 13 dana kastracije na 26 kunića preračunani su u srednju vrijednost, tako, kao da rezultati pripadaju jednom jedinom kuniću. Vidi se da sve do 20. dana zaraze praktički nismo našli imobilizine u krvi, dok ih je u inficiranom testisu bilo već od 13. dana zaraze. Budući da smo se sreli s izoliranom nazočnosti imobilizina u tkivu ranog orbitisa, vrlo je vjerojatno da antitijela nisu pristizala na mjesto primoinfekcije iz optoka krvi, nego da su se stvarala upravo na mjestu gdje smo ih našli. Ipak se u principu može dopustiti i obrnuti put: da se imobilizinska antitijela mogu stvarati primarno u stanicama koje su udaljene od mjesta infekcije (limfni čvorovi, upalne stanice i retikulohistiocitarni sistem izvan primarnog žarišta), budući da se već od prvog dana zaraze radi o općoj infekciji kunića. Početne količine stvorenih antitijela mogle bi iz udaljenih izvora dospjeti preko limfnih žila u optok krvi, a odavde — usljed jako izražene pozitivne taksije spram uzročnika sifilisa — kroz stijenke krvnih žila u tkivne sokove spolnih žlijezda. Mogućnost penetracije kroz stijenke krvnih žila ionako je povećana zbog upalnog procesa na mjestu primoinfekcije. Kako u vodenom ekstraktu neinficiranih testisa nismo našli imobilizinska antitijela vjerojatno je da kroz stijenke nepromijenjenih krvnih žila velike molekule imunih globulina ne mogu proći, pa čak ni onda kada ih u krvi ima u velikim količinama. Tako bi se zbog stalne filtracije kroz upalom alterirane žile u inficiranim testisima male količine imobilizina mogle kumulirati in situ zbog čega ih u krvi praktički ne bi bilo.

Protiv takve teoretski postavljene mogućnosti u našem pokusu govori ovo: pošto treponeme u žarištu primoinfekcije tesauriraju sva slobodna antitijela s kojima se sretnu — a zbiva se to do njihova potpunog zasićenja — moralo bi kod suponiranog pasivnog prijelaza iz krvi kod pet nekastriranih kontrolnih kunića doći kasnije do pojave imobilizina u krvi negoli kod kastriranih, kojima smo odstranili ogroman rezervoar treponema. Prema tome bi postponirana registracija antitijela u krvi kontrolnih životinja išla na račun utrošenih in loco morbi. Međutim mi nismo zapazili bitne razlike u vremenu prvog pojavljivanja imobilizina u krvi kod kastriranih i nekastriranih kunića. Krivulje kretanja antitijela kod kastriranih životinja nisu dopustile pretpostavku kumulacije i ranijeg podizanja razine titra imobilizina u krvi, baš kao što nisu kod nekastriranih

ranih kunića zabilježena kakva odstupanja u tom pogledu. Imobilizinska su se antitijela javljala u krvi po-ve neovisno od svake utrošene količine imunih globulina u sifilitičnom orbitisu. Sve su to dokazane činjenice koje govore protiv mišljenja da antitijela nađena in loco morbi pristižu na mjesto primoinfekcije iz krvnog optoka kao u neki recipijent. Iz istih razloga smatramo da ne postoji ni centrifugalni smjer kretanja antitijela, tj. da bi se imobilizini u vremenu našeg ispitivanja resorbirali s mjesta primarnog žarišta i postepeno prebacivali u krvni optok (tada bismo u kontrolnoj grupi morali zabilježiti raniju pojavu antitijela). Zbog svega toga zaključujemo da se imobilizini stvaraju autohtono na mjestima specifičnih upalnih infiltrata, a prvi su njegovi počeci na mjestu primoinfekcije.

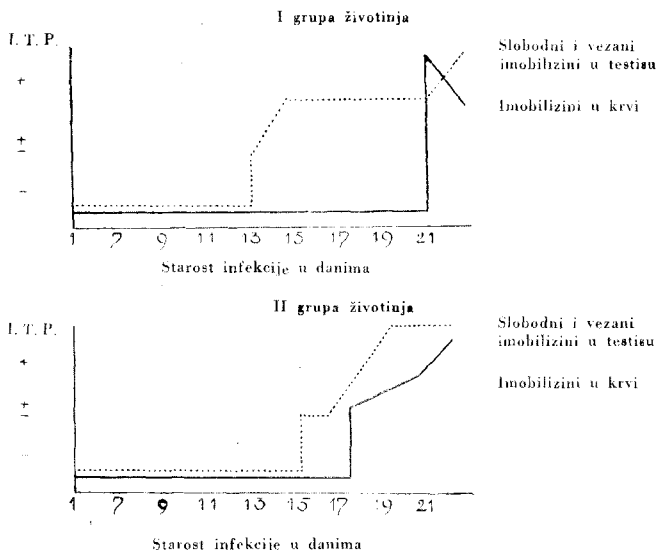
Zanimljivo je na tom mjestu spomenuti da kod humanog i eksperimentalnog sifilisa kad treponematoza dosegne svoj maksimalni stepen (rezolutivni stadij sifilisa) u isto vrijeme proizvodnja imobilizina ne doseže svoj kulmen. Tek kad najveći broj treponema u tijelu ugine i bude liziran podiže se nivo titra specifičnih antitijela, koji dosegne svoj maksimum baš u periodu pada treponema u tijelu (za razliku od nespecifičnih reagina). To je možda baš zato što se proizvedeni slobodni imobilizini u stadiju maksimalne treponematoze gube vezanjem na tijela treponema, a tek kad treponeme uginu, oslobada se mnoštvo antigena (kao kod inokulacije s mrtvim treponemama), koji onda podražuju organizam na stvaranje novih antitijela. U terapiji ranog sifilisa također je primijećen u toku davanja antisifilitika povremeni porast titra imobilizina na račun vjerojatno liziranih treponema (Sause, Borek, Louis, 1951). Antitijela se izgleda nesumnjivo troše vezanjem na uzročnika sifilisa.

## B) Druga grupa životinja

Kako je iz opće imunologije poznato regionalni limfni čvorovi imaju primordijalnu ulogu kod sinteze antitijela, što se može suvremenim metodama optički ustanoviti nakon eksperimentalno unesenog antigena. Na tom se mjestu vrši sinteza kod korpuskularnih i topivih antigena, kao i kod bakterijskih oboljenja. Nema sumnje da na početku sifilitične zaraze regionalni limfni čvorovi imaju istu funkciju. Otok limfnih čvorova izraz je »obrambene« funkcije limfatičkog tkiva gdje se stvaraju reaktivne tvari. Pitanje je za nas samo u vremenskom redosljedu: da li je proizvodnja imobilizina vezana za regionalne limfne čvorove, odnosno kasnije za limfopoetski aparat u cjelini? Taj bi naimue redosljed odgovarao redosljedu morfoloških promjena u klinici sifilisa i najvjerojatnije je da stvaranje specifičnih antitijela ide po tom pravilu. Mi smo se međutim htjeli pobliže upoznati s ulogom regionalnih limfnih čvorova kod intratestikularne zaraze kunića, pa smo u tu svrhu drugoj skupini životinja (26 pokusnih, 5 kontrolnih) prije inokulacije operativno odstranili obostrano ingvinalne i femoralne limfne čvorove (operativne zahvate izveo je DR EDO VUKELIĆ, docent Veterinarskog fakulteta). Pošto su se

kunići oporavili od zahvata, inokulirali smo im u desnu spolnu žlijezdu virulentne treponeme (oko 42 puta  $10^5$  u 1 ml). Dalja obrada kunića bila je ista kao i u prvoj grupi: kastracija od 9 do 22 dana, klinička inspekcija, histološke pretrage, notiranje broja treponema in loco morbi, isti način ekstrakcije tkivnih sokova iz osušanih lamela spolnih žlijezda, kardijalna punkcija dva puta tjedno u 72 dana, izrada reakcije I. T. P. itd.).

GRAFIKON I  
IMOBILIZINI U ZARIŠTU PRIMAINFEKCIJE I U KRVI KOD SIFILISA  
KUNIĆA STAROG OD 1 - 22 DANA



Po rezultatima smo vidjeli da se kliničke i mikromorfološke promjene inficiranih i neinficiranih spolnih žlijezda nisu razlikovale od onih u prvoj grupi životinja. Zabilježeno je samo ponegdje da je upalni infiltrat u lijevom testisu bio građen gotovo isključivo od tzv. pseudocozinofilnih leukocita. Takav je infiltrat kod sifilitičnog orbitisa kunića poznat (TURNER, HOLLANDER, 1959) i dolazi ponekad namjesto limfocitarnog, odnosno plazmocitarnog infiltrata, te može predstavljati gotovo 90% svih staničnih elemenata (tako je bilo i u nekim našim slučajevima). Klinički znakovi upale bili su jasno progresivnog toka paralelno s povećanjem broja dana infekcije (najranije je upala zapažena 9. dana), a u

testisima su se često vidala nekrotična žarišta. Međutim vitalna svojstva treponema nisu bila u tolikoj mjeri oštećena kao u prethodnoj grupi, iako je i ondje 14 dana nakon zaraze došlo do pada u broju treponema. No i onda kada je broj treponema u specifičnom orhitisu bio malen ili vrlo oskudan – treponeme su ipak optimalno preživjele u kontrolnim cpravetama reakcije I. T. P. punih 24 sata.

Senzibilizirane treponeme, tj. vezani imobilizini nađeni su dva dana kasnije negoli u prvoj grupi (od 15. dana dalje), no imobilizini su ovdje brže u 100% mjeri zasitili treponeme. Nađaz slobodnih molekula antitijela u vodenom ekstraktu žlijezda pratio je vezane imobilizine u iste dane. U neinkuliranim testisima imobilizini nisu dokazani osim u najmanjim (gotovo neinteresantnim) tragovima kod dva kunića (21%), a nisu utvrđeni ni u krvnom optoku osim u dva zadnja dana (v. grafikon br. I, II grupa). Ta je pokusna grupa životinja pokazala, prema tome, da nema bitnih razlika u ponašanju imobilizinskih antitijela ako su prije zaraze odstranjeni regionalni limfni čvorovi. Kađ bi regionalni limfatički aparat prvi preuzimao funkciju proizvodnje antitijela – prije upalnog infiltrata in situ – očekivali bismo u ovoj grupi retardiranu pojavu imobilizina u krvi i u spolnim žlijezdama. Mala razlika vidjela se u žarištu infekcije – razlika od dva dana. No mi mislimo da je to premalo da bi bila signifikantno. U krvi razlike nije bilo. Zato predmtjevamo, da je neki drugi – genitalima bliz regionalni limfatički sistem preuzeo funkciju ekstirpiranih ingvinalnih limfnih čvorova, te su se tako praktički izjednačili rezultati između obje prve pokusne grupe životinja.

### C) Treća grupa životinja

Svi elementi koji se nalaze u tekućinama tijela imaju celularno podrijetlo, pa tako i antitijela. Zanimljivo je bilo ispitati medikamentozno, da li su stanice upalnog infiltrata u primarnom lüičnom granulomu uključene u taj proces. Kako je poznato, fundamentalnu ulogu u izbijanju procesa upale imaju hormoni. Sa flogističnim dezoksikortikosteron-acetatom može se izazvati reakcija toga tipa, dok antiflogistički djeluju hormoni tipa kortizona. Oni smanjuju kongestiju, inhibiraju fagocitozu, reduciraju kontakt između antigena i stanica retikulohistiocitarnog sistema, suprotstavljaju se proliferaciji stanica, koje stvaraju antitijela i – nema sumnje – djeluju antimitotički. To posljednje svojstvo bilo bi pod djelovanjem jezgre ciklopentenoperhidrofenantrena kortikalnih steroida. Kako su stvaraoči antitijela limfociti, odnosno plazma stanice, a njihovo oslobađanje pod direktnom kontrolom suprarenalnih hormona, pokušali smo iskoristiti antiflogistično djelovanje kortizona za dokaz stvaranja imobilizina u upalnom infiltratu lüičnog granuloma. Tako je instituirana treća grupa kunića u kojoj je svaka od 31 zaražene životinje tretirana od časa zaraze s hidrokortizonom (Scheroson F. Schering, 17-oxycorticosteronacetat u vodenoj kristaliničnoj otopini). Injekcije smo davali prvih 10 dana direktno u desnu spolnu žlijezdu (po 2,5 mg hidrokortizona u

0,5 ml fiziološke otopine), a onda po 5 mg i. m. svaki dan sve do dana kastracije. Desni testis inokuliran je s 21 puta  $10^5$  virulentnih treponema. Da bi se izbjegla eventualna sekundarna infekcija, svakog drugog dana kunići su primali 1 ml 10% otopine sulfadiazin-natrija i. m. Svi ostali zahvati, postupci i pretrage bili su jednaki kao u prethodnim grupama. Serološka kontrola krvi trajala je 83 dana.

Kliničke promjene inficiranih testisa razlikovale su se od prijašnjih utoliko što je makroskopski izgled (veličina, konzistencija i struktura na presjeku) bio od prvog do zadnjeg dana kastracije kod svih kunića jednoličan. Nismo vidjeli progresivne inflamatorne reakcije kao u prijašnjim pokusima. Rani akutni orhitis zabilježen je prvi put 11. dana. Strukture testisa na presjeku izgledale su normalno i testisi nisu sadržavali nekrotičnih žarišta. Ovojnice inokuliranih spolnih žlijezda reagirale su poslije 13 dana, no zadebljanja nisu bila jako izražena. Specifična se upala u toj grupi životinja razvija očigledno atenuirano i s manjim intenzitetom. Na presjecima desnog testisa češće se je nalazio hematoma kao posljedica čestih intratestikularnih injekcija hidrokortizona. Značajan je bio međutim nalaz većih ili manjih količina guste, ljepljive i prozirne sluzi u spolnim žlijezdama inokulirane strane, koja se je razvlačila u niti krcate treponemama. Radi se po ROSSETTIU i MARSONU o mukoznoj degeneraciji u sifilomu, a po TURNERU i HOLLANDERU o direktnom sekretornom produktu treponeme palide.

Mikromorfološke promjene karakteriziralo je siromaštvo upalnih staničnih elemenata u inokuliranim žlijezdama. Rijetko smo našli – i to samo u kasnijim danima kastracije – na ognjišta gušće zbijenih upalnih stanica. Svuda su drugdje celularni elementi bili narijetko i rahlo razbacani. I u toj je grupi bilo infiltracije s pseudoeozinofilnim leukocitima. Na više su se mjesta vidjele proširene krvne žile krcate leukocitima, a ponegdje u minimalno zadebljanim pregradama tubula svojim su smještajem u nizu podsjećali na krunicu položenu na bazalnoj membrani. Kod nekih se kunića našao i oveći broj stanica ispunjenih krupnozrnatim pigmentom (rezorpcija hematoma). Histološki nalazi neinficiranih testisa bili su kod svih životinja normalni. Tako se glavna mikromorfološka karakteristika za ovu grupu – kako smo i očekivali – sastojala u siromaštvu elemenata upale *in loco inoculationis*.

Što se broja treponema tiče, one su bile bogato zastupane i obilne u inficiranim testisima od prvog dana kastracije pa sve do samo tri dana pred završetkom. Pod djelovanjem hidrokortizona bili su uvjeti za množenje mikroorganizma kudikamo pogodniji negoli u prethodnim grupama. No usprkos tome ni ovdje nije izostao nepoznati toksički faktor koji je djelovao treponemicidno prvi put u maloj mjeri 16. dana zaraze, a u većoj kasnije (18, 19. i 20. dana zaraze). Tako je mortalitet treponema počeo u ovoj grupi nešto kasnije negoli u prvoj i drugoj.

Senzibilizacija treponema zabilježena je 17. dana oboljenja. Kasnijih dana ona se samo naslućuje. Tome u prilog govori razlika u preživljenim treponemama u pokusnim i kontrolnim epruvetama u reakciji I. T. P. To međutim nije bilo moguće apsolutno sigurno utvrditi, jer je toksički utje-

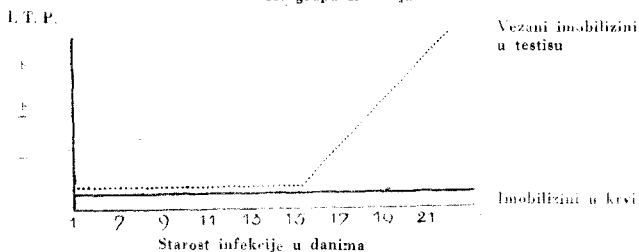
čaj oštetio prevelik broj treponema u kontrolnim epruvetama (npr. 18. dana I. T. P. 72% preživjelih treponema u kontrolnoj epruveti, nijedna u pokusnoj tj. 72% ili 19. dana I. T. P. = 64% ili 20. dana I. T. P. = 80%). Sigurno je toliko, da su se u ovoj grupi vezani imobilizini pojavili 4 dana kasnije negoli u prvoj.

U vodenom ekstraktu žlijezda nađeni su slobodni imobilizini u tragovima 15. (22%) i 20. (44%) dana, a u sve ostale dane kastracije ni kod jednog kunića nije bilo u sokovima testikularnog tkiva slobodnih mole-

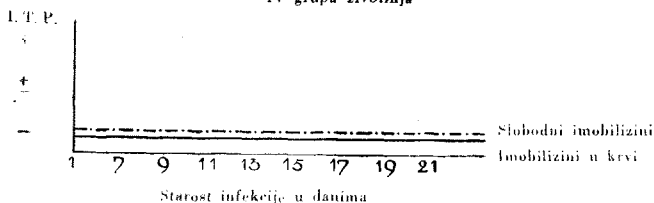
GRAFIKON 2

IMOBILIZINI U ZARIŠTU PRIMORNEFEKCIJE I U KRVI KOD SIFILISA KUNIĆA STAROG OD 1-22 DANA

III grupa životinja



IV grupa životinja



kula imobilizina, pa ni tamo gdje se sigurno ustanovila ili sigurno naslućivala senzibilizacija treponema. To je bitna razlika spram ostalih grupa životinja. Izgleda kao da su se antitijela odmah vezala na treponeme, kojih je bilo izuzetno mnogo u ovoj grupi. Zato ih, mislimo, nismo našli u sokovima inficiranih testisa.

U dane kastracije nije bilo u krvi imobilizinskih antitijela ni kod jednog kunića ove grupe, izuzev kod jednoga sa 16 dana starom zarazom (u tragovima, v. grafikon br. 2 III grupa). Simptomatično je npr. da su antitijela nađena na senzibiliziranim treponemama u starosti zaraze od 17 dana, a u krvi tek 26 dana kasnije ili - naslućivana senzibilizacija

18. dana in loco morbi, a imobilizini u krvi tek nakon 8 dana ili 100% senzibilizacija 20. dana, a dva dana kasnije imobilizini u krvi. Očito je da su imobilizini u krvi prethodila antitijela u sifilističnom orbitisu.

Kod pet nekastriranih kunića iz kontrolne grupe vrijeme pojave antitijela u krvi bilo je prosječno jednako kao i kod kastriranih životinja.

Pod djelovanjem hidrokortizona bila je dakle u ovoj grupi suprimirana upalna reakcija u žarištu infekcije. Zbog toga je lokalna obrana postala nedovoljna i uzročnik sifilisa se slobodnije množio. Zbog kočenja alergično-hiperergične reakcije tkiva i siromaštva infiltrata s limfocitima i plazma-stanicama došlo je do retardiranog stvaranja specifičnih antitijela i njihove kasnije nazočnosti in loco morbi.

#### D) Četvrti grupa životinja

Metabolizam svake stanice u tijelu reguliran je između ostaloga i putem vegetativnog nervnog sistema, pa tako i sinteza imunih globulina mora biti pod uplivom živaca. Iako se o tome malo toga pouzdanije znađe, eksperimenti su pokazali da npr. iritacija simpatikusa dovodi do povećanja svih limfoidnih organa i do bubrenja retikulohistiocitarnog tkiva, tj. da dovodi do hiperfunkcije onog tkiva koje ima ulogu u formaciji antitijela (GASTINEL I SAR., 1955). Nema sumnje da penetracija antigena izaziva – još prije proizvodnje antitijela – jednu nespecifičnu reakciju, koja se očituje u iritaciji autonomnog nervnog sistema i povećanom lučenju hormona, a to oboje djeluje na stanice koje proizvode antitijela. O ulozi živaca, specijalno kod sifilisa, malo je poznato. GASTINEL je SA SAR. 1938. god. utvrdio da faradizacija neurovegetativnog sistema dovodi do pada reagina u krvi životinja (kontrolirano reakcijom bistre-aja po Meinickeu), a na razvoj sifiloma da jednom djeluje inhibitoryno, drugi puta podražajno – jednom da se razvija lokalna refrakternost, a drugi put regionalni hipersenzibilitet a da nije pobliže poznato zašto. Neuropatološka škola općenito smatra da je za stvaranje antitijela potrebna kao preduvjet prisutnost živčanog sistema, a mjesto primarnog podražaja da bi bio terminalni živčani retikulum. Po naziranju SPERANSKOG npr. suverenu ulogu kod svih normalnih i patofizioloških procesa u tijelu ima centralni dio živčanog sistema, dok je po RICKERU – tvorecu tzv. relacione patologije – najvažniji periferni i terminalni dio (KOGOJ, 1952). Pokusi BOGENDÖRFERA 1927, TUSCHA i MOSERA 1951. god. kao da potvrđuju da je centralni nervni sistem nužno potreban za stvaranje imunih tijela. No protiv toga imade niz drugih eksperimenata. Tako su npr. ENGELHARDT i LENDLE (1959), proučavajući parasimpatičnu stimulaciju kod alergičnih reakcija, dokazali da antigen-antitijelo reakcije teče apsolutno neometano i bez prisutnosti perifernih živaca. A kada su kunićima u eternoj narkozi prerezali kičmenu moždinu između petog i šestog cervikalnog kralješka i takve životinje senzibilizirali na strane bjelančevine, pokazalo se da nakon tri tjedna sve životinje daju pozitivnu precipitacio-

nu reakciju, a na i.v. reinokulaciju antigena da reagiraju gotovo sve anafilaktičkim šokom. Po tome izgleda kao nedvojumno da prerez kičmene moždine – iako temeljito utječe na fiziologiju životnih procesa u životinji – ipak ne sprečava stvaranje antitijela ni anafilaktički šok. STARK i HOLLAN (1959) svojim pokusima na štakorima albinos protumačili su nastale trofičke suetnje nakon resekcije živaca kao posljedicu djelovanja hormona suprarenalne žlijezde – osobito glukokortikoida, budući da denervirano područje djeluje kao permanentni stresor za organizam.

I nas je osobito zanimalo kako bi se patofiziološki i imunološki procesi odvijali u kunića kada bi se prije zaraze s blijedom treponemom cijelo genitalno područje napjelo denervirati? To nas je zanimalo i s kliničkog i mikrobiološkog gledišta, zanimao nas je ciklus razvoja treponema u takvoj sredini, proces sinteze imobilizina in situ kao i općenito čitav tečaj ranog sifilisa. Zato smo se odlučili na pokus s još jednom grupom životinja kod kojih je bila – koliko je maksimalno moguće – eliminirana inervacija spolnih organa.

Doc. DR EDO VUKELIĆ operirao je 40 kunića namijenjenih ovom ispitivanju. Opreparirao je u tu svrhu mekane dijelove na leđima kunića između zadnjeg torakalnog i prvog lumbalnog kralješka, električnom bušilicom proširio je dorsalne međuprostore te šiljastim skalpelom presjekao poprijeko lednu moždinu. Iza toga ušao je metalnom sondom kaudalno u kičmeni kanal i dobro pročistio šupljicu. Nakon destrukcije kičmene moždine došlo je do kljenuti stražnjih ekstremiteta kod životinja. Kunići su nepomično ležali. Bili su smješteni u individualne kaveze a mogli su kretati samo puzajući pomoću prednjih ekstremiteta. Najčešće su ležali na jednom boku zbog čega je kod nekih došlo do dekubitusa. Zbog posvemašnje inkontinencije (incontinentia alvi et urinae) životinjama se preko dana često mjenjala slama na ležaju. Kako je spontano mokrenje bilo onemogućeno četiri puta dnevno pritiskom na trbušni stijenku istiskivan je sadržaj iz mokraćnog mjehura. Za vrijeme pokusa koji je trajao 87 dana životinje su jako oslabile i zapadale u kateksiju, mada su imale relativno dobar apetit i konzumirale prilično hrane. Poneke su prije ili kasnije počele aktivno trzati stražnjim ekstremitetima, a kod dva kunića slučajno smo primijetili kod susreta sa ženkom da su zadržali sposobnost erekcije. Neki kunići koji su jako slabili dobivali su, da se očuvaju od sekundarne infekcije, sulfadiazin-natrijum i.m. (povremeno).

Nekoliko dana nakon operacije kunići su zaraženi intratestikularno s 30 puta  $10^5$  virus-ovih treponema. Ispitivanja i u ovoj grupi vršena su istim poznatim redoslijedom. Mnoge smo životinje izgubili pretežno zbog univerzalne atrofije i sekundarnih infekcija. Kako smo unaprijed računali s gubitkom, grupa je u početku brojila 40 pokusnih životinja. Ukoliko se dogodilo da je koji kunić uginuo još prije kastracije nadomjestili smo ga drugim iz kontrolne grupe. Tako smo uspjeli održati puni planirani broj životinja u pokusu. U promatranom vremenu kliničke su promjene na mjestu inokulacije kod ove grupe bile minimalno izražene kroz čitavo razdoblje kastracije i odnosile su se uglavnom na zadebljanje vezivnog tkiva oko spolnih žlijezda. Inficirani su testisi ostajali mekane konsistencije i maleći, na presjeku su imali normalnu žljezdanu strukturu, dok su ovojnice i supskrotalno vezivo reagirali infiltracijom, no jačom samo izuzetno. Destrukcija kičmene moždine u visini prvog lumbalnog kralješka jako je izmijenila sposobnost reagiranja spolnih žlijezda, ali se

to nije odtazilo na ovojanicama s peritestikularnim vezivom. Blage znakove upale toga veziva našli smo jednako i na neinkuliranoj strani testisa.

Histološke slike spolnih žlijezda bile su karakterizirane na inficiranim stranama tipičnim sitnostaničnim specifičnim infiltratom građenim isključivo od limfocita i plazma-stanica. Vaskularizacija je bila manje izražena negoli u prethodnim grupama. Kod svih se kunića konstantno nalazila degeneracija seminifernih kanala. Na neinficiranim testisima nismo našli mikromorfološki patoloških promjena.

Uслови za razvitak treponema u takvim spolnim žlijezdama pokazali su se izvanredno nepovoljnima. Taj zaključak proizlazi iz nalaza vrlo oskudnog broja mikroorganizama između 10. i 22. dana poslije zaraze. Zato je bilo ograničeno, a u pretežnom broju slučajeva i onemogućeno ispitivanje senzibilizacije treponema. Njih je bilo ili samo pojedinačnih ili ih nismo uopće našli u zaraženom tkivu. Senzibilizacija je s uspjehom ispitana svega kod tri kunića koji su najranije kastrirani. U to doba zaraze od 9 i 10 dana nismo na treponemama našli vezanih imobilizina. Kasnijih dana javio se je još i onaj nepoznati toksički faktor koji je već u kontrolama reakcije I. T. P. imobilizirao oko 50% treponema. Zato se rezultati pokusa nisu mogli ni s približnom vjerojatnosti očitati. Prvi puta našli smo na tu toksičku komponentu već kod zaraze od 13 dana dakle najranije od svih dosad obradenih grupa životinja. Tako je za razliku od prethodnih nalaza raspod treponema bio izvanredno oskudan, a kliničkih znakova upale nije bilo. Upalni znakovi testikularnog tkiva mogli su se pouzdanije utvrditi histološki negoli klinički, a i ti su bili slabije izraženi negoli u prvoj grupi životinja. Razmnažanje je treponema naglo zaustavljeno već 11. dana zaraze. Ni u jednom slučaju nismo uspjeli dokazati imobilizinska antitijela u formi slobodnih molekula u vodenom ekstraktu iz tkiva inficirane ili neinficirane strane testisa. A u krvi nađeni su na dane kastracije jedino kod kunića sa zarazom starom 19 dana (u tragovima) dok su svi ostali kunići bili negativni (v. grafikon br. 2 IV grupa).

### III. EPIKRIZA

Na skupnoj smo tablici br. I komparativno i kratko ispisali sve rezultate koje smo dobili u četiri obrađene grupe kunića. Uspoređujući te grupe vidimo da između prve (nazovimo je tipske) grupe kunića i druge s odstranjenim regionalnim limfnim čvorovima nema većih ni bitnih razlika. Kako nema sumnje da regionalni limfatički aparat prvi preuzima funkciju u proizvodnji antitijela – pošto je prvi u doticaju s antigenom (SCHMIDT, 1955; FREY u. WENK, 1958) – mi smo zbog odsutnosti regionalnih limfnih čvorova u drugoj grupi kunića očekivali retardiranu pojavu imobilizina in situ i u krvi. Takvu smo razliku u žarištu infekcije doduše vidjeli, ali smo je ocijenili kao nesigifikantnu (samo dva dana razlike). Rezultati pretrage u trećoj grupi kunića, koji su bili obrađivani hidrokortizonom pokazali su višestruke i naglašene razlike spram prve tipske grupe. Testisi su s lokalno i i. m. apliciranim steroidom bili klinički i histološki suprimi-

rani u inflamatornoj reakciji, a da je istodobno bio omogućen slobodan razvoj i vanredno bogata multiplikacija treponema (kao na »pasivnoj podlozi«, DUREL i sar., 1951). Ako saheremo srž razlike između prve tipske i treće grupe kunića, možemo reći da je zbog djelovanja hidrokortizona došlo uglavnom do odgađanja i mitigiranja svih inače normalnih kliničkih i imunoloških pojava koje se javljaju u inicijalnoj periodu sifilisa.

U četvrtoj grupi životinja zabilježili smo također velike razlike spram prve tipske grupe. Siromašna inflamatorna reakcija žlijezdanog tkiva dovela je do odsutnosti kliničkih manifestacija sve do zadnjeg dana kastracije. Uvjeti za razmnažanje treponema bili su izrazito nepovoljni i – mada nismo imali mogućnosti dokazati imobilizine u testisima – vitalitet je i onog malog broja treponema štetovao ranije i jače negoli u prvoj tipskoj grupi. Sreli smo se s neuobičajenim pojavama za inicijalni tečaj eksperimentalnog sifilisa. Takva promijenjena slika ne može se tumačiti kao atenuirani oblik koji je nastao iz istih razloga kao kod djelovanja hidrokortizona. Ovdje se ne radi o ublažavanju i odgađanju promjena, nego o spontanom gušenju bolesti (letargično i stuporozno djelovanje) na neinerviranom području tijela (rani letalitet treponema in loco inoculationis, asimptomatična slika). Imunološki međutim sifilis nije pokazivao odstupanja od normalnog tečaja. Specifična su se antitijela javila u krvi približno u isto vrijeme kao i u prvoj tipskoj grupi kunića (kastriраних i nekastriраних). Izgleda zato da je presijecanje perifernih trofičkih i senzibilnih živaca, a naročito živaca vegetativnog sistema, dovelo do smetnji u mijeni stvari svih stanica denerviranog dijela i da je ta konsekutivna promjena metabolizma a priori nepovoljno utjecala i na rasplod treponema i na razvoj upale (GASTINEL i sar., IZRAELSON, MAXIMTCHOUK, 1936). Sredina u koju su bili uneseni uzročnici sifilisa postala je od izvjesnog dana zaraze posve nepogodna za razvoj njihovih generacija. U ostalim područjima tijela koja su bila normalno inervirana i s normalnim metabolizmom stanica nije bilo, sudeći po svemu, razloga koji bi sprečavao uobičajeni tok bolesti. Ako i nije bilo imobiliziranih antitijela in loco morbi, ništa nije ometalo ostali organizam da ih proizvodi udaljeno od tog područja, odakle su onda mogla kasnije iza 22. dana zaraze nesmetano pristizati u optok krvi.

Za naša je ispitivanja bilo važno da isključimo paralizirani dio tijela kao metabolički nepogodan za normalnu agresiju uzročnika sifilisa i da smanjenu upalnu reakciju žlijezdanog tkiva tumačimo kao maksimalno mogući tkivni odgovor na malen broj prisutnih treponema.

#### O UZROCIMA VITALNOG OŠTEĆENJA TREPONEMA U RANOM ORHITISU

Brojčano stanje treponema u testisima kod životinja svih četiriju grupa pokazalo se uvijek obilnijim kod ranije sprovedenih kastracija. I vitalna otpornost mikroorganizma bila je tada veća. Vitalnu smo otpornost ocjenjivali prema vremenu preživljenih treponema in vitro u reakciji I. T. P. u inkubaciji od 24 sata ili prema nalazu mrtvih treponema već kod 0 sati u

sifilitičnom orbitisu. Vidjeli smo da je sa starošću sifilisa bilo sve manje uzročnika bolesti in loco morbi, a vitalna im se snaga postepeno smanjivala da bi na kraju kastracionog vremena treponeme potpuno nestale iz žarišta. Dok je u početku zaraze postojalo nesmetano i slobodno razmnažanje, najednoće se pojavio zastoj u multiplikaciji, koji je bio vezan uz neki nepoznati deleterni faktor, pod čijim se utjecajem konačno javila smrt treponema. DUREL i sar. (1951) smatraju, da se u rano razvijenom orbitisu treponeme množe na »pasivnoj podlozi«, tj. na takvoj gdje još nema antitijela. Kada se antitijela stvore, tada je već alergijski promijenjena tkivna reaktivnost zbog koje dolazi do prvih kliničkih manifestacija sifilisa. I FRIBOURG-BLANC (1956) se izjašnjava »da obrambene snage kuničeva organizma stvaraju subnormalnu morfologiju treponema«. Dakako da je biologija uzročnika sifilisa, koji se opire uzgajanju in vitro, još uvijek velika nepoznanica. Osim grublje morfologije (usprkos elektronskom mikroskopu) i nekih njegovih tinkterijalnih i lokomotornih osobina ne zna se o njemu mnogo. Ne zna se čak sigurno ni to da li je uzročnik sifilisa aerob ili pravi anaerob, ili je možda prema prilikama oboje. Do zaključaka o nekim njegovim vitalnim i generativnim svojstvima dolazi se indirektno i spekulativno preko eksperimenata na životinjama. Tako je uočeno da virulencija i patogena moć treponeme palide nije uvijek ista nego da se mijenja s vremenom i lokacijom na istom domaćinu (BESSEMAN, 1936). Isto se opaža kod vezanja sa specifičnim antitreponemnim antitijelima: specifično senzibilizirane treponeme pokazuju smanjenu virulenciju i smanjenu patogenu moć, što se lako dokazuje in vitro (brže ugibanje) ili in vivo (produžavanje vremena prve inkubacije sifiloma kod životinja). Tkivne promjene u domaćinu svakako ili favoriziraju ili koče sposobnost množenja treponema. Vidjeli smo da se nakon zaraze stvaraju u organizmu neke nepoznate tvari koje općenito zovu »obrambenima«, a koje su sposobne da upravljaju i reguliraju prirast novih naraštaja treponema. Ako se kunić obrađuje od prvog dana zaraze (ili još u vrijeme prve inkubacije) kortizonom, mi smo se osvjedočili da se prva inkubaciona perioda do pojave sifiloma, odnosno ranog orbitisa, ne skraćuje. Kliničke su promjene uočene na testisima kod treće grupe 11. dan, a kod prve tipske 10. dan.

Međutim dobro je poznato (CHESNEY i KEMP, 1925., MAGNUSON, EAGLE, FLEISCHMANN 1948) da je dužina prve inkubacije kod sifilisa životinja obrnuto proporcionalna broju inokuliranih treponema. Znađe se i to da je pred formiranje prvog litičnog simptoma na koži kunića potrebno oko 10 milijuna treponema u žarištu, a za manifestaciju klinički uočljive prve promjene već oko 100 milijuna (TURNER i HOLLANDER, 1959). Budući da kortizon apliciran za vrijeme prve inkubacije sifiloma ne utječe na povećanje broja, tj. na brzinu diobe treponema, zaključuje se da u toj fazi sifilisa ne dolazi još do izražaja nikakva zapreka od strane organizma koja bi kočila rasplod. Ta zapreka dolazi kasnije. Izvanredno je zanimljivo da se jednom već formiran zastoj u množenju treponema može u žarištu zaraze medikamentozno ukloniti. Ako se naime kortizon primijeni za vrijeme već manifestiranog prvog sifilitičnog simptoma kod kunića, onda do-

lazi naglo do regeneracije treponema i ekscesivno velikog povećavanja broja, takvog, kakav se nikada ne opaža kod kontrolnih životinja. Po podacima TURNERA i HOLLANDERA (1959) kod kunića koji su u to doba primali 10 dana kortizon nađe se u 100 mikroskopskih polja iz sifiloma 700–2300 treponema, dok se kod kontrolnih kunića nađe samo 3–160. Kortizon naime apliciran u to vrijeme suprimira, a možda i potpuno otklanja onu nepoznatu zapreku koju suprotstavlja organizam množenju treponema, a koja je centrirana u upalnom infiltratu primarnog žarišta. Da se kočenje prirasta novih naraštaja treponema može dovesti u vezu s imunološkim procesima u upalnom infiltratu svjedoči i odgađanje proizvodnje reaginskih antitijela kod životinja obrađivanih kortizonom. Faktori ili supstancije koje koče množenje in loco morbi nemaju direktna treponemocidna svojstva, nego samo inhibiraju dalji razvoj generacija, što je dokazao GASTINEL SA SAR. ekstrakcijom tkiva uznapredovalog sifiloma, ili takvog koji je bio na putu regresije. I naši pokusi na životinjama nisu nikada pokazali toksična svojstva vodenog ekstrakta iz sifilitičnog orbitisa kunića.

Odgovornost za vitalno oštećenje uzročnika sifilisa pokušali smo u početku dovesti u vezu s povećanjem broja mikroorganizama na samom mjestu zaraze pretpostavljajući da bi možda metabolički produkti treponema mogli utjecati toksički na razvoj novih generacija. No protiv takvog mišljenja direktno je govorio nalaz ogromnog broja treponema u grupi kunića obrađivanih s hidrokortizonom, kod kojih su toksička oštećenja nastala vrlo kasno. S druge strane mijelotomirana grupa kunića imala je općenito oskudan rasplod treponema, dok smo toksičko oštećenje našli tu najranije od svih grupa. Prema tome brojčano stanje treponema nije moglo biti razlog za slabljenje njihovih vitalnih svojstava.

U inflamiranim su se testisima često javljala i pojedinačna nekrotična žarišta, koja smo vidali već i makroskopski u drugoj polovici kastracionog vremena. Nekrotično je tkivo sigurno nepogodno za razvoj tako osjetljivog mikroorganizma kao što je treponema. No mada je takva nekroza zabilježena u drugoj grupi kunića već od 13. dana zaraze, baš se u toj grupi štetno djelovanje okoline na treponeme rjeđe zapažalo negoli kod drugih grupa kunića bez prisutne nekroze. Iz toga zaključujemo da nekrotično tkivo i njegovi raspadajni produkti nisu u većoj – a najmanje u bitnoj – vezi s letalitetom treponema in situ.

U prve tri pokusne grupe kunića zabilježeno je ngibanje treponema in vivo obično u isto vrijeme ili samo koji dan kasnije negoli je ustanovljena senzibilizacija s imobilizinima. Prema literarnim podacima senzibilizacija morfološki i funkcionalno mijenja uzročnika sifilisa. To su već 1906. i 1907. god. zabilježili ZABOLOTNY i MASLAKOWETZ, a TOURAINE je 1912. god. pokazao aglutinacionu sposobnost treponema in vitro (svojom tzv. stelarnom aglutinacijom), naglasivši da te treponeme pokazuju izrazitu sklonost raspadanju (cit. CHARPY, RANQUE, 1953). Zato ima opravdanog razloga da se imobilizinima pripiše inhibicija metabolizma žive palide (SAUSSE, BOREL, 1953), koji dovode do alteracije u njenoj strukturi pa

time i do smanjivanja virulencije. GREIFELD je 1954. god. na elektronskom mikroskopu takve promjene mogao čak i vidjeti. U nizu različitih shvaćanja o tom problemu spomenuli bi još, da FRIBOURG-BLANC misli da je letalni svršetak treponema nastao upravo zbog njihova susreta sa specifičnim antitijelima i da je posljedicom upravo toga regresija sifilitičnog orhitisa kod kunića. Ako se u to vrijeme ekstrahiraju treponeme iz testisa vidit će da pored mrtvih ima još i poneka živa treponema. Za te žive treponeme smatra FRIBOURG-BLANC da su opskrbljene s premalo molekula imobilizina ili da je kod njih tek pred kratko vrijeme došlo do fiksacije antitijela, pa »treponeme još nijesu dospjele da uginu. Ali dovoljno ih je podrvcí kratkoj inkubaciji u termostatu, pa da sve uginu« (1956).

Na osnovu takvih sugestija i naših rezultata skloni smo vjerovanju da je vitalno oštećenje treponema u ranom sifilitičnom orhitisu najvećim dijelom uzrokovano specifičnim antitijelima koja mogu djelovati treponemicidno in vitro, a kočanjem množenja in vivo. No čini se da toj specifičnoj smrti podliježu samo ranije generacije treponema in vivo i da se kasnije mogu razviti rezistentni oblici prema treponemicidnoj moći imobilizina. Toj tvrdnji ide u prilog činjenica da se u razvijenom sifilomu, koji se nadovezuje na rani orhitis, opet javlja velik broj živih i virulentnih treponema koje su senzibilizirane, a koje ipak in vitro ne ugibaju u dodiru s aktivnim komplementom. To bi bile tzv. »adaptirane forme sa smanjenim metabolizmom« (FRIBOURG-BLANC, 1956).

U četvrtoj grupi kunića u kojoj zbog rano nastalog oštećenja treponema nismo uspjeli dokazati specifična antitijela in loco morbi – u stvari ne znamo, nisu li možda ta antitijela postojala. No bez obzira na senzibilizaciju u ovoj grupi ima i drugih razloga koji su mogli deleterno djelovati na treponeme. Mi smo već kao vjerojatan razlog prorjeđenju treponema spomenuli promijenjen metabolizam stanica u neinviranom području. Resekcija kičmene moždine svakako nije potpuno eliminirala neurovegetativnu inervaciju, jer je trunkus simpatikus ostao neoštećen. Zbog toga se valjda i nisu u histološkim preparatima našle nikakve degenerativne promjene na stanicama namijenjenim spermatogenezi u lijevim, neinvokuliranim testisima. Pa i razvoj prvih generacija treponema na inokuliranoj strani tekao je relativno dobro sve do 10. dana zaraze. Smetnje su, prema tome, mogle biti blaže naravi. Nepovoljni uvjeti okoline došli su do izražaja postepeno i neprimjetno tek kod daljih generacija i većeg broja uzročnika sifilisa (10. dan). Kada bi u sifilitičnom orhitisu postojale neke toksične supstancije, vjerujemo i ponovno naglašavamo da bi ih valjda našli u vodenom ekstraktu testisa u bilo kojoj grupi kunića. No na takve stvari u bilo kojem obliku nikad nismo naišli. U svakom slučaju naši su pokusi općinito dopustili, da vitalno oštećenje treponema u sifilitičnom ranom orhitisu možemo s najvećom vjerojatnosti smatrati kao izraz djelovanja neke efektivno specifične antitvari, koja se ne smije smatrati toksičnom u farmakološkom smislu.

## GDJE SE ODVIJA SENZIBILIZACIJA TREPONEMA U SIFILISTIČNOM ORHITISU?

U općem uvodu o reakciji I. T. P. na početku ove radnje iznijeli smo, da senzibilizacija treponema ne nastaje sinhrono na svim treponemama, niti su imobilizini podjednako raspoređeni na sve treponeme u inflamiranom testisu. Na početku proizvodnje imobilizina antitijela se vežu samo na neke treponeme, a tek kasnije nastaje progresivno i podjednako zasićenje svih treponema. Do tog smo mišljenja došli na osnovi ocjenjivanja pojedinih uzoraka antigene suspenzije upotrijebljene u reakciji I. T. P. To bismo mogli upotpuniti zanimljivim opažanjem, koje zahvaljujemo histološkim slikama nadenim kod tog životinjskog pokusa. Mikroskopski su nalazi kod sifilitičnih orhitisa pokazali da specifični upalni infiltrat – naročito kod ranije izvedenih kastracija – nije ravnomjerno i difuzno proširen na čitavo žlijezdno tkivo, nego zahvaća samo pojedinačna manja žarišta u obliku otoka i otočića. Oko tih žarišta svagdje se još vidala po sve normalna struktura žlijezde i veziva bez znakova upale.

Pokusi u četiri grupe kunića pokazali su osim toga da je tamo gdje su testisi bogatiji na upalnom infiltratu nalaz imobilizinskih antitijela konstantniji (prva i druga grupa kunića) negoli u grupama sa slabo izraženom upalom (treća i četvrta grupa kunića). Dakle u testisima s jednako starom zarazom, ali s inhibiranim i manje izraženim upalnim infiltratom imobilizina gotovo i nije bilo. To nas sve više učvršćuje u mišljenju da se u inzularno smještenim upalnim žarištima nalaze upravo one treponeme koje smo in vitro našli parcijalno ili totalno senzibilizirane, dok bi treponeme još iz neinflamiranih predjela inficiranog tkiva bile hiposenzibilne, odnosno kod započete inflamacije supkritično senzibilizirane.

Time bi mogli opravdati neredovan nalaz senzibilizacije treponema od kunića do kunića, koji smo opažali u sve četiri grupe. Tako npr. u prvoj tipskoj grupi nismo nakon 13. dana zaraze, iako smo već našli senzibilizirane treponeme, uspjeli da ih ponovno dokažemo i ostalih dana kod drugih kunića. Osim raznoolikih individualnih karakteristika među životinjama mislimo ovdje i na već nabačeno naše opažanje inzularnog smještaja upale. Lako je shvatiti da je ad hoc ekscidirano tkivo testisa namijenjeno ekstrakciji treponema i filtraciji tkivne tekućine neki put potjecalo s mjesta jače izražene upalne infiltracije, a drugi put s mjesta manje inflamacije. Ukoliko pak nismo našli imobilizinskih antitijela u ekstraktima testisa nego samo vezane na tijela treponema, mislimo da su uzročnici sifilisa za sebe potrošili sve slobodne molekule antitijela, bilo zato što je treponema u tim slučajevima bilo u velikom broju kao u trećoj grupi kunića, bilo zato što je slobodnih imobilizina u tkivnoj tekućini bilo malo.

Ti nam rezultati pokazuju na činjenicu da FRIBOURG-BLANCOVE (1956) funkcionalno imunobiološke dvije vrste treponema potječu sa žarišta koja su patološkohistološki, s obzirom na aktualno razvijenu upalnu reakciju, međusobno različita.

## ODNOS IZMEĐU BROJA TREPONEMA I PRVE POJAVE IMOBILIZINA U KRVI

Vremenski interval između zaraze i prve pojave specifičnih antitijela u optoku krvi kod nekastriranih kontrolnih životinja varira ponešto od kunića do kunića u sve četiri grupe. U prvoj tipskoj grupi on iznosi 16–23 dana, u drugoj grupi 16–30 dana, u trećoj 19–27, a u četvrtoj 16–33 dana. Inkubacija je prema tome trajala između 2–4 tjedna u sve četiri grupe. Iste su rezultate kod eksperimentalnog sifilisa dobili i drugi autori (DUREL i SAR., 1951., GASTINEL i SAR. 1952, TURNER i HOLLANDER, 1959. itd.). Zanimljivo je međutim da operativno odstranjivanje inokuliranog testisa in toto nije bitno utjecalo na dužinu prve inkubacije ni u jednoj od četiri grupa životinja. Napominjemo pri tome da je kastracija počela već 9 dana nakon zaraze, čime se sveukupni broj treponema u tijelu silno smanjio. Imobilizine smo našli u optoku krvi najranije kod kastriranih životinja prve tipske grupe između 15. i 31. dana, kod druge grupe između 19. i 37. dana, kod treće između 16. i 34. a kod četvrte između 19. i 37. dana. Prosječno dakle između 3–5 tjedana.

U pokusima koje su još 1949. god. izveli CUMBERLAND i TURNER pokazalo se da dva sata nakon inokulacije živih treponema u testis kunića na tom mjestu ima još samo 7% od ubrizganih treponema (migracija 93%?). a tek od 24 sata do 48 sati da ih je moguće naći u većem broju. Množenje je u početku zaraze polagano (dioba se događa svaka 33 sata), a onda naglo i eksplozivno, da na vrhu ranih sifilitičnih manifestacija (inicijalni i rani rezolutivni stadij) dosegne svoj maksimum. Nema sumnje međutim da je infekcija već od samog početka opća u cijelom tijelu. U suglasnosti s time mora da je kod naših pokusa do stimulacije aparata za proizvodnju antitijela u cijelom tijelu kunića došlo još prije devetoga dana zaraze. Prema rezultatima naime ne možemo tvrditi da je prisutnost većeg broja treponema kod nekastriranih kontrolnih kunića dovela do skraćenog roka inkubacije ili do naglijeg porasta imobilizina u krvi mjerenog samo kvalitativnom probom. Isto tako nemamo nikakvog uvida u to da li bi kastracija prije devetog dana zaraze izmijenila taj odnos ili kakav bi udeo s imobilizinima bio u daljoj budućnosti, tj. da li bi bilo više imobilizina u krvi kod kvantitativnog mjerenja u grupama kontrolnih životinja ili ne. No u vezi s tim pitanjem naveli bi da kod onih kunića koji su na dane kastracije već imali antitijela, pošto je bio sifilitični orbitis operativno odstranjen, nije u krvi došlo do pada imobilizina. U tom se pogledu ponašanje imobilizinskih antitijela ne podudara s opažanjima kod reaginskih, klasičnih antitijela. Moramo zato zaključiti da se je opći podražaj za proizvodnju imobilizina fiksirao negdje između prvog i devetog dana zaraze i da nije pokazivao ovisnost od broja prisutnih treponema. Na njega se iza toga nije moglo više utjecati niti smanjivanjem broja treponema, niti odstranjivanjem primarnog upalnog žarišta. Iz testisa emigrirane treponeme dospjele su prije devetog dana što direktno putem krvi, što preko limfnih žila u limfne čvorove, pa preko duktus toracikusa u krv i tako u druge udaljene organe, te su kao antigeni podražaj razvile svoje djelova-

nje izvan primarnog žarišta. Zato krivulje imobilizina u krvi kod kastri-ranih i kod nekastri-ranih životinja imaju približno podjednaki karakter. Na vrijeme prve inkubacije nije mogla iz istih razloga utjecati niti ekstim-pacija regionalnih limfnih čvorova, niti destrukcija jednog djela kičmene moždine, a niti administracija hidrokortizona u dozama koje smo mi davali.

Rezultati naših pokusa ne razilaze se međutim s rezultatima koje su utvrdili drugi autori proučavajući vremensku zavisnost prvih kliničkih simptoma i broja inokuliranih treponema. Pri tom je, kako znamo, bilo utvrđeno da je dužina inkubacije obrnuto proporcionalna broju inokuli-ranih mikroorganizama: što je broj blijedih treponema u času zaraze manji, potrebna je i duža inkubacija da bi se formirao specifični sifilom. Riječ je međutim o određenom broju treponema u času primoinfekcije, a ne o naknadnom mijenjanju već inokuliranih treponema.

U našim smo pokusima vidjeli da smanjivanje broja treponema iza de-većoga dana zaraze nema više nikakva utjecaja na vrijeme prve pojave imobilizinskih antitijela u krvi. Naddane razlike nosile su samo individu-alni način reakcije pojedine životinje.

#### GDJE SE VRŠI SINTEZA IMOBILIZINA?

Naše su nas četiri grupe kunića podučile da je lokalni nalaz imobilizina u primarnom žarištu infekcije to čišći što je upala toga žarišta morfo-loški i histološki više uznapredovala. Smanjivanjem lokalnih simptoma upale primjenom hidrokortizona ili razaranjem module spinalis išla je usporedo i smanjena ili posvemašnja karencija antitijela in loco inocula-tionis. Prema tome bi stepen inflamacije bio direktno proporcionalan s proizvodnjom specifičnih antitijela na mjestima ljućnih plazmoma.

Elementi upalnog infiltrata u sve četiri grupe kunića sastojali su se od stanica karakterističnih za aktuelno stanje sifilisa: limfociti i plazmatske stanice, dok pseudocozinofilne leukocite većina autora smatra nespeci-fičnim sastavnim dijelom toga infiltrata. Poznato je da se baš limfocitina i plazma stanicama općenito pripisuje uloga stvaranja i prenošenja anti-tijela. U prve dvije grupe kunića proces sinteze antitijela in situ nije bio ničim ometan i odvijao se u limfocitarnim i plazmatskim stanicama bez zapreke. U grupi životinja obrađivanih hidrokortizonom oskudan nalaz imobilizina na mjestu zaraze pripisujemo farmakodinamskom djelovanju ovog steroida, koji ne samo da odgađa razvoj upale na mjestu ulaska in-fekta nego inhibira i histiogenu proizvodnju antitijela. Oskudan nalaz imobilizina in situ u trećoj grupi kunića prema tome bi bila posljedica smanjene upalne reakcije i inhibirane sekretorne funkcije upalnih sta-nica.

Razaranje kičmene moždine u dijelu ispod torakalnih kralježaka već je kao operativni zahvat predstavljao težak šok za čitav organizam kunića. Većina operiranih životinja nije živjela dulje od mjesec do mjesec i pol dana, a ugibala je sa simptomima maksimalno izražene kaheksije, anemije

i atrofije unutarnjih organa. Neposredni je povod smrti pretežno bila sekundarna infekcija. Sifilitična zaraza u takvom slabo rezistentnom organizmu lišenom svojih normalnih vitalnih snaga prolazila je u promatranom vremenu asimptomatski. Sudeći po oskudnom broju treponema u inficiranim testisima i uzevši u obzir restringiranu inflamatornu reakciju na mjestu inokulacije, možemo ponoviti da uzročnik sifilisa nije u takvoj metaboličkoj sredini našao pogodan teren za agresiju. Sifilitična infekcija na enerviranom području nije imala sposobnost da se adekvatno afirmira pa su kliničke manifestacije u početku bile odsutne. Odsutnost imobilizina u tkivu sifilitičnog orhitisisa prema tome je jedan od znakova lokalne tkivne insuficijencije za stvaranje antitijela.

Zaključujemo iz svega gore navedenoga da je za sintezu imobilizinskih antitijela, s jedne strane, odgovorna ekstenzivnost i intenzivnost inflamacije, a funkcionalna intaktnost limfocitarnog i plazmastaničnog infiltrata *in situ*, s druge strane. Praktički se prema tome može očekivati da se nakon intratestikularne zaraze treponemom palidom stvaraju kod kunića specifična imobilizinska antitijela najprije na mjestu primarnog litičnog infiltrata.

## S A D R Ž A J

Eksperimentalni rad obuhvaća četiri grupe kunića, koje su obrađivane na jednaki način. Svaka je grupa imala 31 kunića rase činčila. Namjera je tog eksperimentalnog rada bila da se provjeri pretpostavka o stvaranju specifičnih antitreponemnih imobilizinskih antitijela na mjestu primarne infekcije uzročnika sifilisa kod kunića. Zato se nakon intratestikularne zaraze virulentnom blijedom treponemom Nicholsova soja tražila prisutnost specifičnih antitijela u tkivu spolnih žlijezda. Radilo se je serijski na nizu životinja u svakoj grupi, kako bi ispitivanje moglo obuhvatiti uvijek stariji datum zaraze. Tako je od devetog do dvadeset i drugog dana nakon inokulacije uzročnika sifilisa vršena kastracija životinja, a kastrirani je materijal višestruko pretraživan. Ispitivala su se antigena svojstva treponema ekstrahiranih iz sifilitičnog orhitisisa, tj. stupanj njihove specifične senzibilizacije: u vodenom ekstraktu zaraženih testisa nastojala se dokazati prisutnost slobodnih molekula imobilizina, a dva puta na tjedan u trajanju otprilike od dva mjeseca pretraživana je krv životinja reakcijom imobilizacije treponeme palide po Nelsonu i Mayeru.

Uz kliničku i mikrobiološku kontrolu (određivanje broja razmnoženih treponema i evaluacija njihove vitalne otpornosti) vršeni su i histološki pregledi inficiranih spolnih žlijezda. Svaka je grupa bila podijeljena na 26 pokusnih životinja namijenjenih kastraciji i 5 kontrolnih životinja koje nisu bile kastrirane. Inokulacija treponema izvedena je samo u jednu spolnu žlijezdu, dok je druga zadržana kao kontrola.

U prvoj »tipskoj« grupi životinja zabilježena je i klinički i histološki specifična upala zaraženih testisa progresivnog tečaja, koja se klinički izrazila devetoga dana i napredovala u intenzitetu sve do zadnjeg dana

Tabela br. 1. - Skupni rezultati pretraga kod sifilisa kunića starog 9 - 22 dana

	I grupa	II grupa	III grupa	IV grupa
Klinička slika	upala progresivna	upala progresivna	atenuirana stacionirana upala	karencija upale
Histološka slika	tipičan specifični infiltrat	tipičan specifični infiltrat	siromašna specifična infiltracija	siromašna specifična infiltracija
Broj treponema	dober	dober	vrlo velik	oskudan
Senzibilizacija treponema	od 13 dana zaraze	od 15 dana zaraze	od 17 dana zaraze	neispitano
Slobodne molekule imobilizina	od 13 dana zaraze	od 15 dana zaraze	nema ih	nema ih
Oštećivanje vitaliteta treponema	od 15 dana zaraze	15. i 21. dana zaraze	od 18 dana zaraze	od 13 dana zaraze
Imobilizini u krvi	individualno naznačeni	individualno naznačeni	nema ih	nema ih

kastracije. Senzibilizacija treponema i prisutnost slobodnih molekula imobilizina u vodenom ekstraktu tih spolnih žlijezda utvrđena je najranije trinaestoga dana zaraze, a na dane kastracije najčešće se nisu mogla dokazati specifična antitijela u optoku krvi.

Da bi se ispitala uloga regionalnih limfnih čvorova kao mjesta eventualne primarne proizvodnje imobilizinskih antitijela, drugoj su grupi kunića prije zaraze odstranjeni ingvinalni i femoralni limfni čvorovi. Rezultati pretraga međutim nisu se u ovoj grupi bitno razlikovali od onih u prvoj tipskoj grupi, pa se pretpostavilo da je funkciju sinteze imobilizina mogao u ovim prilikama preuzeti neki drugi limfatički sistem koji se je našao blizu genitalnih organa.

Specifični upalni infiltrat *in loco inoculationis* bio je klinički i histološki suprimiran u trećoj grupi kunića zbog parenteralne primjene kortizona. Rezultati pregleda su pokazali da atenuirana upala na mjestu lučne primoinfekcije dovodi kasnije do stvaranja specifičnih antitijela in loco morbi, negoli je to slučaj bez primjene kortizonskih preparata.

Četvrta grupa kunića bila je namijenjena ispitivanjima koja su trebala u primarnom sjedištu stvaranja antitijela odrediti pobliže ulogu živčanog sistema. Zato je u ovoj eksperimentalnoj grupi izvedena prije zaraze transverzalna mijelotomija svih kunića u visini prvog lumbalnog kralješka.

Rezultati kliničkih, histoloških, mikrobioloških i seroloških ispitivanja i međusobna uspoređivanja rezultata iz pojedinih životinjskih grupa dovela su do zaključka da se primarno sjedište stvaranja specifičnih antitreponemnih antitijela nalazi kod sifilisa kunića u upalnom infiltratu na samom mjestu ulaska infekta.

#### LITERATURA:

1. Bellone, A. G. e Bonelli, M.: Risultati ed osservazioni sul test di immobilizzazione del treponema pallidum secondo Nelson e Mayer (T.P.I. test) nelle sifilide umana. Nota IIIa: Riproducibilità del T. P. I. test, Giorn. Dermat., 96 : 698-704 (1955), ref. Zbl. 95: 268 (1956).
2. Bergel, S.: Allgemeine Biologie und Therapie der Syphilis, G. Fischer, Berlin 1931.
3. Bessermann, M.: Sur la variabilité fonctionelle de Treponema pallidum, Soc. franc. Derm. Syph. 1084-1094 (1936).
4. Bogendorfer cit. Engelhardt, G. und Lendle, L.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage anaphylaktischer Reaktionen in Abhängigkeit vom Nervensystem, Kl. Wschr., 97: 867-873 (1959).
5. Bunting cit. Boivin, A. et Delaunay: Récentes découvertes concernant le lieu de formation des anticorps et le mécanisme hormonal de leur mise en liberté, Presse Med., 2: 16-17 (1946).
6. Charpy, J. et Ranque, J.: cit. Charpy, J.: Le T.P.I. test de Nelson-Mayer et les nouveaux aspects immunologiques de la syphilis, Masson et Cie, Paris 1953.
7. Chesney, A. M. and Kemp, J.: Studies in experimental syphilis. I. The influence of the size of inoculum of the course of experimental syphilis in the rabbit, J. exp. Med. 41: 479 (1925).

3. *Cumberland, M. C. and Turner, T. B.*: The rate of multiplication of *Treponema pallidum* in normal and immune rabbits, *Derm. and Vener. of exp. Med.* Vol. III. No 12: 631 (1949).
9. *Durel, P.*: Sur la réaction sérologique aux antigènes tréponémiques, *Minerva Derm.*, 11: 364-373 (1955). —; Test d'immobilisation faussement positif?, *WHO-T. P. L.*, 1. mai 1957.
10. *Durel, P., Sausse, A., Collart, P., Roiron, V. et Borel, J. L.*: Test d'immobilisation des tréponèmes, *Prophylaxie vénérienne*, T. 23, No 2 : 59-76 (1951).
11. *Fengelhardt, G. and Leudle, L.*: Experimentelle Untersuchungen zur Frage anaphylaktischer Reaktionen in Abhängigkeit vom Nervensystem, *Kl. Wschr.*, 97: 367-373 (1959).
12. *Eberson, F.*: Spirochaeticidal properties of serum in latent and exp. syphilis. *Arch. Dermat. Syph.*, 4: 490-511 (1921).
13. *Erich et Harris*, cit. *Boivin, A. et Deleunay, A.*: Récentes découvertes concernant le lieu de formation des anticorps et le mécanisme hormonal de leur mise en liberté, *Presse Méd.*, 2: 16-17 (1946).
14. *Frey, J. R. and Wenk, P.*: *Dermatologica*, 116: 234-259 (1958).
15. *Fribourg Blanc, A.*: Les anticorps immobilisants des Tréponèmes dans la Syphilis, *WHO-VDT-SERO 75*, Juin 1956 —; Essai d'interprétation des formes latentes et tardives de la syphilis en fonction des acquisitions récentes de la Biologie, *Bull. Soc. franç. Derm.*, 4: 364 (1956). —; Les anticorps immobilisants des tréponèmes dans la Syphilis, II. Technique et interprétation du test d'immobilisation des tréponèmes, *Ann. Derm. Syph.*, 84: 410-420 (1957).
16. *Gastinel, P., Collart, P. et Borel, J. L.*: *Ann. Inst. Pasteur*, 83: 259 (1952).
17. *Gastinel, P., Collart, P., Sausse, A. et Borel, J. L.*: Le test d'immobilisation de Nelson dans la syphilis expérimentale du lapin, *Bull. Soc. franç. Derm.*, 1: 50-54 (1952).
18. *Gastinel, P., Demanche, R., Pulvenis, R. et Collart, P.*: Modification du pouvoir flocculant du sérum vis-à-vis de l'antigène de Meinicke après irritation du système neuro-végétatif. Etude dans la syphilis expérimentale du lapin *Bull. soc. franç. Derm.*, 937-943 (1933).
19. *Gastinel, P., Pulvenis, R. et Collart, P.*: Le rôle du système neuro-végétatif dans l'évolution des syphilitomes expérimentaux, *Bull. Soc. franç. Derm.*, 1162-1168 (1936). —; Nouvelle recherche sur la rôle du système neuro-végétatif dans l'évolution de la syphilis expérimentale, *Bull. Soc. franç. Derm.*, 1827-1831 (1936).
20. *Gastinel, P., Fasquelle, R. et Barbier, P.*: *Éléments d'immunologie générale*. Masson et Cie, Paris, 1955.
21. *Gottron, A. und Schönfeld, W.*: *Dermatologie und Venerologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1961.
22. *Greifeld*: *Derm. Wschr.*, 128: 181 (1954).
23. *Grundmann, E.* cit. *Gottron, A. und Schönfeld, W.*: *Dermatologie und Venerologie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1961.
24. *Hardy, P., Daguët, G., Borel, J. L. et Durel, P.*: Quelques données sur l'interprétation du test d'immobilisation des tréponèmes, *Bull. Soc. franç. Derm.*, 5 : 539 - 543 (1955).
25. *Haris, Grimm, Mertens et Ehrlich* cit. *Boivin, A. et Deleunay, A.*: Récentes découvertes concernant le lieu de formation des anticorps et le mécanisme hormonal de leur mise en liberté, *Presse Méd.*, 2: 16-17 (1946).
26. *Israelson et Maximtchouk, E. P.*: De l'influence du système végétatif nerveux sur le développement et la cours de la syphilis expérimentale chez les lapins, *Bull. Soc. franç. Derm.*, 1168-1173 (1936).
27. *Kemp, J. E., Chesney, A. M. and Pool, A. K.*: Studies in experimental syphilis. V. The Wassermann test in normal and syphilitic rabbits, *Bull. John Hopkins Hosp.*, 39: 132-148 (1926).

28. **Magnuson, H. J., Eagle, H. and Fleischmann, R.**: The minimal infectious inoculum of *spirochaeta pallida* (Nichols strain) and a consideration of its rate of multiplication *in vivo*, *Amer. J. Syph.*, 32: 1 (1948).
29. **Meinické, K.**: Züchtungsversuche des *Treponema pallidum* auf künstlichen Nährboden, *Hautarzt*, 9: 407-413 (1956). —: Antigen-Antikörperreaktionen mit apathogenen und virulenten *Treponemen*, *Hautarzt*, 11: 489-497 (1956).
30. **McMaster, Kidd**, cit. **Grundmann, E.**: Experimentelle Untersuchungen über die funktionelle Cytomorphologie der lymphatischen Strukturen bei Entzündung sowie unter Cortison und DOCA, Beiträge zur pathologischen Anatomie u. zur allgemeinen Pathologie, 377-432 (1958).
31. **Nelson, R. A. and Diesendruck, J.**: Studies on treponemal immobilizing antibodies in Syphilis, *J. of Imm.*, 66: 667 (1951).
32. **Nelson, R. A. and Mayer, M. M.**: Immobilization of *Treponema pallidum* in vitro by antibody produced in syphilitic infection, *J. exp. Med.*, 89: 369-393 (1949).
33. **Nelson, R. A., Zheuthin, H. E. C., Diesendruck, J. A. and Austin, P. G. M.**: Studies on treponemal immobilizing antibodies, *Amer. J. Syph. Conor. of Ven. Dis.* 34: 101-121 (1951).
34. **Nielsen, H. A.**: *Acta Path. et Microbiol. Scand.*, 40: 119 (1957).
35. **Pillemer, L., Blum, L., Lepow, I. H., Ross, O. A., Todd, E. W. and Wardlaw, A. C.**: The properdin system and immunity: I. Demonstration and isolation of a new serum protein and its role in immune phenomena, *Science*, 120: 279 (1954).
36. **Ricker** cit. **Kogoj, F.**: Nekoliko napomena o aktuelnim pitanjima u alergiji, Simposion o alergiji, Izdavački zavod Jugosl. akademije, 69-77 (1952).
37. **Rosetti, G. e Marson, G.**: Studio del titolo degli anticorpi in lueticci trattati con cortisone, *Minerva Derm.*, 10: 292 (1956).
38. **Sause, A.**: Technique du test d'immobilisation des tréponèmes (T. I. T.), *Extrait des Annales de Biologie Clinique*, 9e année, No 10-11-12: 490-504 (1951).
39. **Sausse, A. et Borel, L. J.**: Notes techniques sur le test d'immobilisation des tréponèmes, *Charpy, J. Le T.P.I. test de Nelson-Mayer et les nouveaux aspects immunologiques de la syphilis*, Masson et Cie, Paris, 1953.
40. **Sausse, A., Borel, L. J. et Luis, J.**: Le test d'immobilisation de *treponema pallidum*: II. Resultats chez les malades traités, *Bull. Soc. franç. Derm.*, 5: 552-557 (1951).
41. **Schipper, G. J. and Chesney, A. M.**: The effect of the method of inoculation upon the course of experimental syphilis in the rabbit, *Am. J. Syph.*, 34: 18 (1950). —: The effect of the method of inoculation on the behavior of the serologic test for syphilis in experimental syphilis of the rabbit, *Am. J. Syph.*, 34: 25 (1950).
42. **Schmidt, H.**: Fortschritte der Serologie, D. Steinkopff, 1955., *Brit. J. Vener. Dis.*, 33: 259 (1957).
43. **Speransky** cit. **Kogoj, F.**: Nekoliko napomena o aktuelnim pitanjima u alergiji, Simposion o alergiji, Izdavački zavod Jugosl. akademije, 69-77 (1952).
44. **Stark, E. und Hollan, S. R.**: Über die Rolle der Nebennierenrinde beim Zustandekommen der nach Nervenresektionen auftretenden tropischen Störungen und Anämie, *Derm. Wschr.*, 37: 662-663 (1959).
45. **Tani, Saito et Funade**: La nature de l'immunité syphilitique, *Zentr. f. Bakt.*, 134: 232 (1953).
46. **Thompson, F. A., Greenberg and Magnuson, H. J.**: The relationship between immobilizing and spirochetal antibodies against T. P., *J. Bact.*, 60: 473 (1950).
47. **Touraine, A.**: Etude critique de la réaction d'immobilisation des Tréponèmes dite «Test de Nelson», *Presse Méd.*, 61: 77 (1953). —: Les anticorps syphilitiques. Essai de séro-agglutination de la syphilis, Thèse de Médecine, Paris, 1912. cit. **Charpy, J.**: *Le T.P.I. test de Nelson-Mayer*, Masson et Cie, Paris, 1953.

48. *Tuch und Moser*: cit *Engelhardt, G. und Lendle, L.*: Experimentelle Untersuchungen zur Frage anaphylaktischer Reaktionen in Abhängigkeit vom Nervensystem, *Kl. Wochr.*, 97: 867-873 (1959).
49. *Turner, J. B.*: Protective antibodies in the serum of syphilitic rabbits, *J. exp. Med.*, 69: 867 (1939). —: Protective antibodies in the serum of syphilitic patients, *Amer. J. Hyg.*, 48: 173 (1948).
50. *Turner, T. B. and Hollander, D. H.*: Biologie des Tréponématozes, Monographie, *Organ. Mondiale de la Santé*, 1959.
51. *Vaisman, A. et Hamelin, A.*: Séparation des réagines et immobilisines tréponémiques des sérum par l'ultracentrifugation, *R. C. Acad. des Sciences*, 234: 156-158 (1952).
52. *Zabolotny i Maslakowetz* cit. *Filipović, D.*: Antitijela protiv treponeme palidum, *Higijens*, 3: 1-23 (1953).

*Iz Dermato-venerološke klinike Medicinskog  
fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.  
Predstojnik: akad. prof. dr F. Kogoj*

*Primljeno na sjednici Odjela za medicinske nauke 1. III 1963.*

WILLIAM I. SCHULL  
 KOICHI P. ITO  
 ATMARAM SONI

### OSVRT NA KRIŽANJE MEĐU ROĐACIMA NA OTOKU SUSKU

Nedavno je Dolinarova iznijela podatke o utjecaju križanja među rođacima na raspodjelu krvnih grupa ABO među stanovnicima Suska, izoliranog otoka u Jadranskom moru. Među 669 uzoraka krvi bilo je 310 grupe O, 337 grupe A, 17 grupe B, a 5 je pripadalo grupi AB. Maksimalna vjerojatnost određenih frekvencija gena (vidi De Groot, 1956) temeljena na pretpostavci da u populaciji nema ukrštanja u srodstvu je  $I^O=0.68226$ ,  $I^A=0.30114$  i  $I^B=0.01660$ . Nadalje je Dolinarova iznijela da je srednji koeficijent križanja među potomcima osoba koje su bile u reproduktivnoj fazi bio 0.0026. Međutim ona zaključuje prema učestalosti grupe O da nije vjerojatno da je sadašnja raspodjela krvnih grupa bila znatno utjecana križanjem u srodstvu. Prema našem shvaćanju možemo dati još više nekih priloga nego ih je dala sama Dolinarova koji bi potvrdili tvrdnju autora.

Naš argument je slijedeći:

Pretpostavimo genetski model koji sadržava 3 gena bez mutacije i selekcije u populaciji s križanjem među rođacima u stalnom procentu. Ako se sa  $p$ ,  $q$  i  $r$  označe frekvencije triju gena (recimo,  $I^A$ ,  $I^B$  i  $I^O$ ), a sa  $a$  konstantna rata križanja u srodstvu, onda su očekivane relativne frekvencije četiri fenotipova slijedeće

Fenotip	Frekvencija
O	$ra + (1 - a)r^2$
A	$pa + (1 - a)(p + 2r)p$
B	$qa + (1 - a)(q + 2r)q$
AB	$2pq(1 - a)$

Maksimalna vjerojatnost ispitivanih parametara može se doznati ako se istovremeno riješe slijedeće jednadžbe

$$\left. \begin{aligned}
 & \frac{\bar{O}}{r} \left\{ \frac{r(1-r)}{\alpha+r(1-a)} \right\} + \bar{A} \left\{ \frac{q-r}{\alpha+(1-a)(p+2r)} \right\} + \\
 & \quad + \bar{B} \left\{ \frac{p-r}{\alpha+(1-a)(q+2r)} \right\} = \frac{\bar{AB}}{1-a} \\
 & \frac{\bar{O}}{r} \left\{ \frac{\alpha+2r(1-a)}{\alpha+r(1-a)} \right\} + \bar{A} \left\{ \frac{2(1-a)}{\alpha+(1-a)(p+2r)} \right\} + \\
 & \quad + \bar{B} \left\{ \frac{2(1-a)}{\alpha+(1-a)(q+2r)} \right\} = -\lambda \\
 & \frac{\bar{A}}{p} \left\{ \frac{\alpha+2(1-a)p+r}{\alpha+(1-a)(p+2r)} \right\} + \frac{\bar{AB}}{p} = -\lambda \\
 & \frac{\bar{B}}{q} \left\{ \frac{\alpha+2(1-a)q+r}{\alpha+(1-a)(q+2r)} \right\} + \frac{\bar{AB}}{q} = \lambda
 \end{aligned} \right\} \quad (I)$$

gdje su  $\bar{O}$ ,  $\bar{A}$ ,  $\bar{B}$  i  $\bar{AB}$  opažene relativne frekvence grupa O, A, B i AB i gdje je  $\lambda$  Lagrangianov množitelj. Te jednadžbe mogu biti riješene bilo kojim od brojnih postupaka (za diskusiju o tom vidi Bodewig, 1959).

Informacija u odnosu na te tvrdnje u pogledu veličine N je

$$\begin{aligned}
 I &= N \left[ \frac{r(1-r)^2}{\alpha+r(1-a)} + \frac{p(q-r)^2}{\alpha+(1-a)(p+2r)} + \right. \\
 & \quad \left. + \frac{q(p-r)^2}{\alpha+(1-a)(q+2r)} + \frac{2pq}{1-a} \right] \\
 Iap &= N \left[ \frac{(q-r)(\alpha+2r(1-a))}{\alpha+(1-a)(p+2r)} - \frac{(1-r)(\alpha+2r(1-a))}{\alpha+r(1-a)} - \right. \\
 & \quad \left. - \frac{2q(p-r)(1-a)}{\alpha+(1-a)(q+2r)} - 2q \right] \\
 Iaq &= N \left[ \frac{(p-r)(\alpha+2r(1-a))}{\alpha+(1-a)(q+2r)} - \frac{(1-r)(\alpha+2r(1-a))}{\alpha+r(1-a)} - \right. \\
 & \quad \left. - \frac{2p(q-r)(1-a)}{\alpha+(1-a)(p+2r)} - 2p \right]
 \end{aligned}$$

$$Ipp = \mathcal{N} \left[ -\frac{(\alpha + 2r(1-\alpha))^2}{ar + r^2(1-\alpha)} + \frac{(\alpha + 2r(1-\alpha))^2}{a\bar{p} + (1-\alpha)(p^2 + 2pr)} + \frac{4q(1-\alpha)^2}{a + (1-\alpha)(q + 2r)} + \frac{2q(r-\alpha)}{p} \right]$$

$$Ipq = \mathcal{N} \left[ -\frac{(\alpha + 2r(1-\alpha))^2}{ar + r^2(1-\alpha)} - \frac{2(1-\alpha)(\alpha + 2r(1-\alpha))}{a + (1-\alpha)(p + 2r)} - \frac{2(1-\alpha)(\alpha + 2r(1-\alpha))}{a + (1-\alpha)(q + 2r)} + 2(1-\alpha) \right]$$

$$Iqq = \mathcal{N} \left[ \frac{(\alpha + 2r(1-\alpha))^2}{ar + r^2(1-\alpha)} + \frac{4p(1-\alpha)^2}{a + (1-\alpha)(p + 2r)} + \frac{(\alpha + 2r(1-\alpha))^2}{aq + (1-\alpha)(q^2 + 2qr)} + \frac{2p(1-\alpha)}{q} \right]$$

Postoji i drugo rješenje koje se često upotrebljava, a koje proizlazi iz: Može se pokazati da zadovoljavajući uslov za niz vrijednosti u rješavanju (I) jest da se riješi slijedeće jednačbe:

$$\left. \begin{aligned} ar + r^2(1-\alpha) &= \bar{O} \\ a\bar{p} + (p^2 + 2pr)(1-\alpha) &= \bar{A} \\ aq + (q^2 + 2qr)(1-\alpha) &= \bar{B} \\ 2pq(1-\alpha) &= \bar{AB} \end{aligned} \right\} \quad (\text{II})$$

Nije teško pokazati iz (II) da je

$$p = \frac{Z \pm \sqrt{Z^2 - 8(\bar{AB} + 2\bar{B})(2\bar{A} \cdot \bar{AB} + \bar{AB}^2)}}{4(\bar{AB} + 2\bar{B})}$$

$$q = \frac{\bar{AB}(1-p)}{2(\bar{A} - p + \bar{AB})}$$

$$r = 1 - p - q$$

i

$$\alpha = \frac{\bar{O} - r2}{r - r^2}$$

gdje je

$$Z = 4\bar{A} \cdot \bar{AB} + 4\bar{A} \cdot \bar{B} + 4\bar{B} \cdot \bar{AB} + 3\bar{AB}^2$$

Jasno je da postoje 2 rješenja za jednadžbe i dok će vrijednosti od  $p$ ,  $q$  i  $r$  biti realne u oba slučaja, vrijednosti  $\alpha$  mogu biti realne ili imaginarne, pozitivne ili negativne. Neke okolnosti mogu dovesti do povećanja imaginarnih vrijednosti od kojih je barem jedan sistem znatno izvan ekvilibrija.

Među realnim vrijednostima samo su one dopustive koje udovoljavaju  $1 \geq \alpha \geq 0$

U tom smislu, negativne vrijednosti govore za vrstu asortativnog križanja, dok su pozitivne vrijednosti konzonantne sa efektom ukrštanja među rođacima.

Analizom podataka sa Suska dolazi se do slijedeće 2 pretpostavke s obzirom na  $\alpha$  naime - 1,739 i 0,632. U obzir treba uzeti samo posljednju koja je, kako će se vidjeti, nevjerovatno široka (velika). Međutim, varijanca te pretpostavke je 3,950, a ta vrijednost nije signifikantno različita od 0.

Prema tome možemo zaključiti da sadašnja raspodjela ABO krvnih grupa na Susku ne daje nikakav uvid u efekt križanja među rođacima. Vrijednost ovog zaključka može se prosuditi, naravno, u svjetlu pretpostavki koje pružaju podaci modela. Među tim pretpostavkama one o ekvilibriju i selektivno neutralnim fenotipovima potpuno su nedovoljne. Bilo kako bilo, iznesena metoda ima širu primjenu nego su to podaci sa Suska i možda će drugdje naći manje problematičnu upotrebu.

#### LITERATURA

1. *Bodewig, F. 1959 Matrix Calculus.* Amsterdam: North-Holland Publishing Co. pp. xi and 452.
2. *DeGroot, M. H. 1956 Efficiency of gene frequency estimates for the ABO system.* Amer. J. Human Genet. 8 : 39-43.
3. *Dolinar-Osoletova, Z. 1961. Utjecaj rodbinskog križanja na raspodjelu osnovnih krvnih grupa ABO kod stanovnika otoka Suska.* Jugoslavenska akademija znanosti i umjetnosti. Rad knj. 323, str. 170-224.

*Iz: Department of Human Genetics  
University of Michigan Medical  
School Ann Arbor, Michigan, USA*

*Primljeno na sjednici Odjela za medicinske nauke od 5. VI 1963.*

## SADRŽAJ

Akademik <i>Branimir Gušić</i> : Naše gledanje na operativno liječenje vanjskih malignoma vrata . . . . .	5
Akademik <i>I. Tomašec, Z. Brudnjak, N. Fijan ml. i Lj. Kunst</i> : Dalji prilog etiologiji zarazne vodene bolesti šarana . . . . .	31
Akademik <i>Drago Perović</i> : Kauzalno rješenje zagonetke zašto tanke pregrade između pneumatskih prostora ne budu resorbirane . . . . .	45
<i>V. Ritterman, E. Ferber, I. Aurer-Koželj, A. Horvat, L. Bremzay, D. Zaklan-Kavić, A. Brodarec, S. Krizmanić</i> : Ispitivanje frekvencije karijesa u odnosu na prehranu u Ravnoj Gori i Brinju . . . . .	87
<i>Ivana Orhel</i> : Pokušaj dokaza imobilizina u žarištu primoinfekcije kod sifilisa kunića . . . . .	115
<i>William I. Schull, Koichi P. Ito, Atmaram Soni</i> : Osvrt na križanje među rodovima na otoku Susku . . . . .	147

