

# Utjecaj ekstraesofagealnog refluksa na učestalost komplikacija i kvalitetu glasa bolesnika s govornom protezom

---

**Danić Hadžibegović, Ana**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2013**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:682095>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-16**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





## Središnja medicinska knjižnica

**Đanić Hadžibegović, Ana (2013) *Utjecaj ekstraesofagealnog refluksa na učestalost komplikacija i kvalitetu glasa bolesnika s govornom protezom [Influence of extraesophageal reflux on the occurrence of voice prosthesis complications and voice quality after total laryngectomy and voice prosthesis implantation].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/1980>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ana Đanić Hadžibegović**

**Utjecaj ekstraesofagealnog refluksa na  
učestalost komplikacija i kvalitetu glasa  
bolesnika s govornom protezom**

**DISERTACIJA**

**ZAGREB, 2013.**

Disertacija je izrađena u Odjelu za bolesti uha, grla i nosa i kirurgiju glave i vrata Opće bolnice «Dr. Josip Benčević», Slavonski Brod, Klinici za bolesti uha, nosa i grla i kirurgiju glave i vrata KBC Zagreb, u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC Rijeka, u Službi za tumore glave i vrata Klinike za tumore, KBC Sestre milosrdnice, i u Klinici za otorinolaringologiju i cervikofacijalnu kirurgiju KBC Osijek te u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb.

**Voditelj rada: prof. dr. sc. Drago Prgomet**

Na prvom mjestu hvala mom ocu i šefu, prof. dr. sc. Davorinu Đaniću, bez čije velike pomoći izrada ovog rada ne bi bila moguća.

Zahvaljujem se poštovanom prof. dr. sc. Dragi Prgometu, na vođenju i podršci tijekom izrade ovog rada.

Iskreno hvala dr. sc. Ani Kozmar na odličnoj suradnji tijekom cijelog istraživanja.

Hvala kolegama liječnicima, prim. Robertu Tičcu, Dijani Pedisić Maržić, dr. sc. Mariji Pastorčić Grgić, Pavlu Peršeu, Tomislavu Tomičeviću, Željku Zubčiću i logopedici Tamari Živković na pomoći pri uključivanju bolesnika u istraživanje.

Posebno hvala mom suprugu, dr. sc. Irzalu Hadžibegoviću, na iscrpnoj statističkoj analizi podataka i kritičkom osvrtu.

Ovaj rad posvećujem svojoj obitelji i roditeljima koji su mi od početka mog stručnog i znanstvenog djelovanja, s puno strpljenja i razumijevanja, bili velika pomoć i podrška, te utkali puno truda i vremena u sve moje uspjehe.

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Epidemiologija karcinoma grkljana .....	2
1.2. Modaliteti liječenja karcinoma grkljana .....	5
1.2.1. Totalna laringektomija .....	7
1.3. Rehabilitacija glasa nakon totalne laringektomije .....	9
1.3.1. Formiranje traheozofagealne fistule .....	13
1.3.2. Govorna proteza .....	15
1.3.3. Uspješnost rehabilitacije traheozofagealnog glasa i govora s govornom protezom .....	18
1.3.4. Komplikacije vezane uz traheozofagealni govor s GP .....	19
1.3.5. Čimbenici rizika za razvoj komplikacija govorne proteze .....	28
1.4. Ekstraefozofagealni refluks .....	29
1.4.1. Anatomija, fiziologija i patofiziologija ekstraefozofagealnog refluksa .....	31
1.4.2. Dijagnostički postupci otkrivanja ekstraefozofagealnog refluksa .....	37
1.4.3. Terapija ekstraefozofagealnog refluksa .....	44
1.5. Ekstraefozofagealni refluks u laringektomiranih bolesnika s govornom protezom .....	47
2. HIPOTEZA .....	49
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	50
4. ISPITANICI I METODE .....	51
4.1. Ispitanici .....	51
4.1.1. Laringektomirani bolesnici s postavljenom govornom protezom .....	51
4.1.2. Kontrolna skupina .....	53
4.1.3. Isključujući kriteriji .....	53
4.1.4. Postupanje s ispitanicima .....	54
4.2. Metode .....	55
4.2.1. ELISA .....	56

4.3. Statistička analiza .....	56
5. REZULTATI.....	57
5.1. Značajke ispitivanih skupina .....	57
5.2. Komplikacije govorne proteze.....	58
5.3. Kvaliteta glasa bolesnika s GP mjerena HRS skalom .....	62
5.4. Vrijednost koncentracije pepsina u slini ispitivanih skupina .....	65
5.5. Komplikacije, kvaliteta glasa i vrijednost koncentracije pepsina nakon 3 mjeseca terapije pantoprazolom .....	72
5.6. Komplikacije, kvaliteta glasa i vrijednost koncentracije pepsina nakon 6 mjeseci terapije pantoprazolom .....	74
6. RASPRAVA.....	76
6.1. Komplikacije govorne proteze.....	76
6.2. Kvaliteta glasa bolesnika s GP mjerena HRS skalom .....	78
6.3. Mjerenje koncentracije i prisutnost pepsina u slini ispitivanih skupina.....	79
6.3.1. Odnos vrijednosti koncentracije pepsina između laringektomiranih bolesnika s GP i zdravih kontrolnih ispitanika .....	81
6.3.2. Odnos vrijednosti koncentracije pepsina između bolesnika sa i bez komplikacija GP .....	82
6.3.3. Odnos vrijednosti koncentracije pepsina i kvalitete glasa bolesnika s GP mjerene HRS skalom.....	85
6.4. Komplikacije, kvaliteta glasa i vrijednost pepsina nakon 3 i 6 mjeseci terapije pantoprazolom .....	86
6.5. Ograničenja istraživanja i prijedlozi budućih istraživanja .....	87
7. ZAKLJUČAK .....	89
8. SAŽETAK.....	90
9. SUMMARY .....	92
10. LITERATURA.....	94
11. ŽIVOTOPIS .....	113

## KRATICE

CT.....	Kompjuterizirana tomografija
EER.....	Ekstreaezofagealni refluks
GER.....	Gastroezofagealni refluks
GERB.....	Bolest gastroezofagelanog refluksa
GP.....	Govorna proteza
HME.....	Izmjenjivač topline i vlažnosti, prevedeno: Heat and moisture exchanger
HRS skala.....	Harrison - Robillard-Schultz skala
HZJZ.....	Hrvatski zavod za javno zdravstvo
i.j. ....	Internacionalna jedinica
IPP.....	Inhibitor protonske pumpe
KT.....	Kemoterapija
LPR.....	Laringofaringealni refluks
LPS.....	Strategija očuvanja grkljana, prevedeno: Larynx preservation strategy
MII.....	Impedancija
MR.....	Magnetska rezonancija
RAI.....	Indeks područja refluksa, prevedeno: Reflux area index
RFS.....	Zbroj kliničkih znakova refluksa, prevedeno: Reflux finding score
ROC.....	Prevedeno: Receiver operating characteristic curve
RSI.....	Indeks simptoma refluksa, prevedeno: Reflux symptom index
RT.....	Radioterapija
SAD.....	Sjedinjene Američke Države
TEF.....	Traheozofagealna fistula
UZV.....	Ultrazvuk

## 1. UVOD

*„Nije rijetkost da upravo hendikep nemoguće učini mogućim. Dokazuju to sportaši s invaliditetom, paraolimpijade ili inicijative poput one zagrebačke koja je nedavno okupila slijepi i slabovidne osobe u školi skijanja. A prije gotovo deset godina dokazali su to članovi riječke klape Novi glas. Iako zapravo nemaju glasa. Nakon što su pobijedili karcinom grla zahvaljujući totalnoj laringektomiji koja je sa sobom odnijela tumor, ali i njihov glas, s činjenicom da nemaju glasa suočili su se – pjesmom. Po tome su postali kuriozitet svjetskih razmjera jer takvih sastava u svijetu nema, a njihove su snimke već sad obišle svijet na medicinskim kongresima. Također, danas iza sebe imaju već niz nastupa uživo, a zasad im je neostvorena želja izdavanje vlastitog CD-a. Zajedno s laringektomiranim iz Zagreba, Osijeka i Karlovca okupili su se u zboru Hrabri ljudi i nastupili u natjecanju amaterskih zborova »Do posljednjeg zbora«“*

*Barbara Čalušić*

*Novi list, 12. ožujka 2012.*

Odavno je čovjek svjestan koliku moć mu daje sposobnost govora. Govor je čovjeku najprimjereniji urođeni način komuniciranja i jedna od temeljnih razlika koja ga razdvaja od drugih živih bića. Gubitak grkljana, odnosno gubitak glasa, negativno utječe na fizički i psihički status bolesnika sa zloćudnim tumorom glave i vrata, i značajno narušava njihovu kvalitetu života. Stoga ne čudi što se bolesnici sa zloćudnim tumorom glave i vrata najviše boje gubitka grkljana, a neki bi, i po cijenu smanjenja preživljenja za 20%, radije sačuvali svoj izvor glasa (1). Rehabilitacija alaringealnog glasa i govora poznata je koliko i totalna laringektomija, i već je nakon prve totalne laringektomije bolesniku restauriran glas. Danas je zlatni standard u govornoj rehabilitaciji traheozofagealni govor pomoću govorne proteze postavljene kroz traheozofagealnu fistulu, koja osigurava jednosmjerni prolaz zraka iz dušnika u jednjak, a sprečava aspiraciju sadržaja iz jednjaka. Ovaj jednostavan kirurški postupak omogućuje brzu i uspješnu govornu rehabilitaciju, ali još uvijek se u 10%-50% bolesnika pojavljuju komplikacije govorne proteze i traheozofagealne fistule koje značajno narušavaju kvalitetu života i uspješnost govorne rehabilitacije laringektomiranih bolesnika. Do sada je poznato nekoliko rizičnih čimbenika koji pridonose nastanku komplikacija, a nekolicina nedavnih istraživanja polako otkriva ulogu patološkog ekstraefagealnog refluksa u razvoju komplikacija. Donedavno je zlatni standard u dijagnosticiranju ekstraefagealnog refluksa bila višekanalna 24-satna pH-metrija. No dokazano je da je pepsin najosjetljiviji i



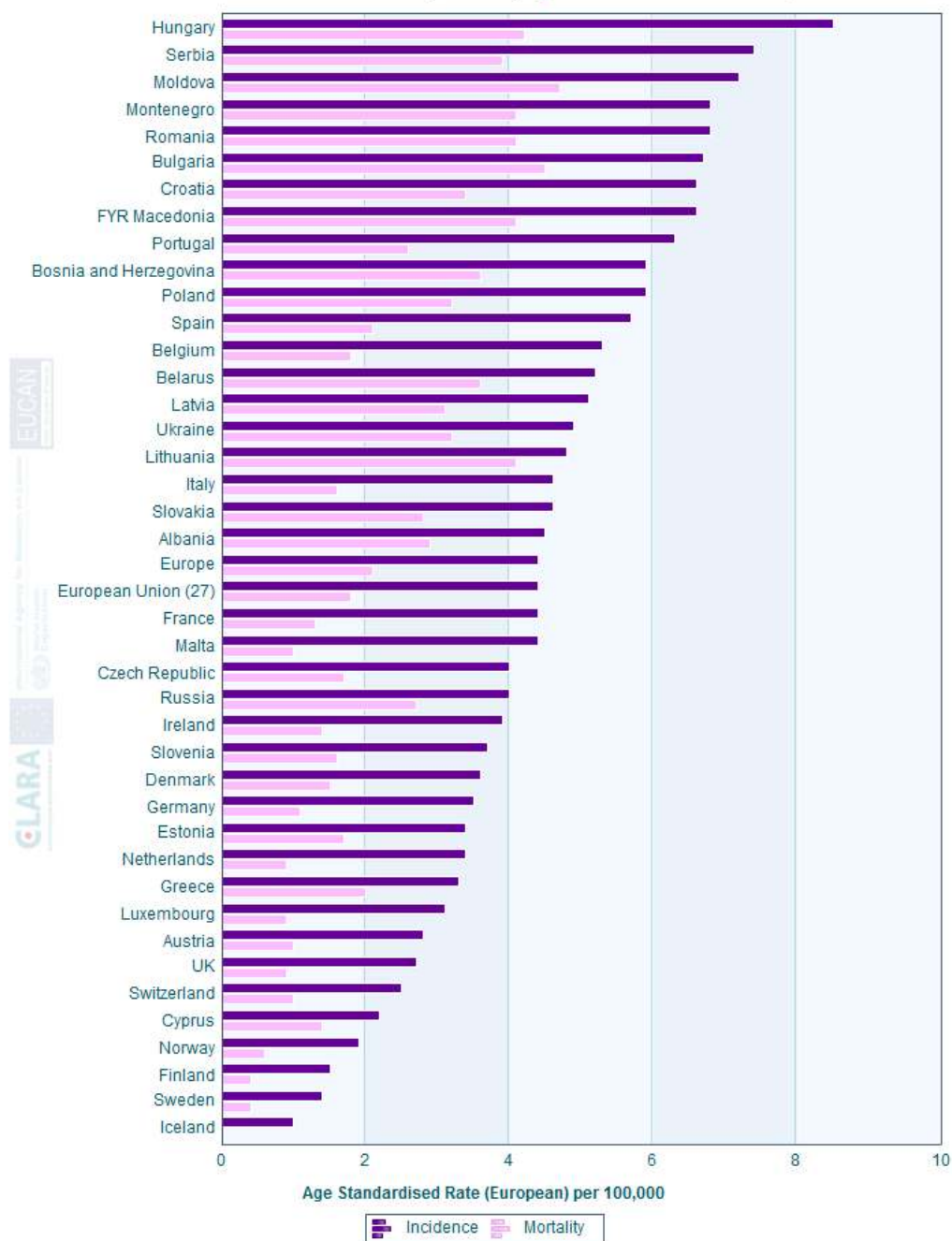
najspecifičniji marker ekstraefagealnog refluksa te je određivanje razine koncentracije pepsina u slini pouzdana, jednostavna i neagresivna dijagnostička metoda koja je od 2011. godine dostupna u kliničkoj praksi. Razvojem medicine i medicinske industrije danas je ne malom broju laringektomiranih bolesnika omogućena lakša i dugotrajno uspješna govorna komunikacija i uz puno truda i hrabrosti ostvarenje nemogućeg, poput sudjelovanja u natjecanju zborova.

### **1.1. Epidemiologija karcinoma grkljana**

Zloćudni tumor grkljana značajan je javnozdravstveni problem u svijetu jer čini oko 2% svih zloćudnih tumora u organizmu i 25% svih zloćudnih tumora glave i vrata, što ga stavlja na drugo mjesto po učestalosti među zloćudnim tumorima glave i vrata (2). Većina zloćudnih tumora grkljana (oko 99%) su planocelularni karcinomi, dok su ostali, poput adenokarcinoma, hondrosarkoma, cilindroma i slično, izrazito rijetki (3).

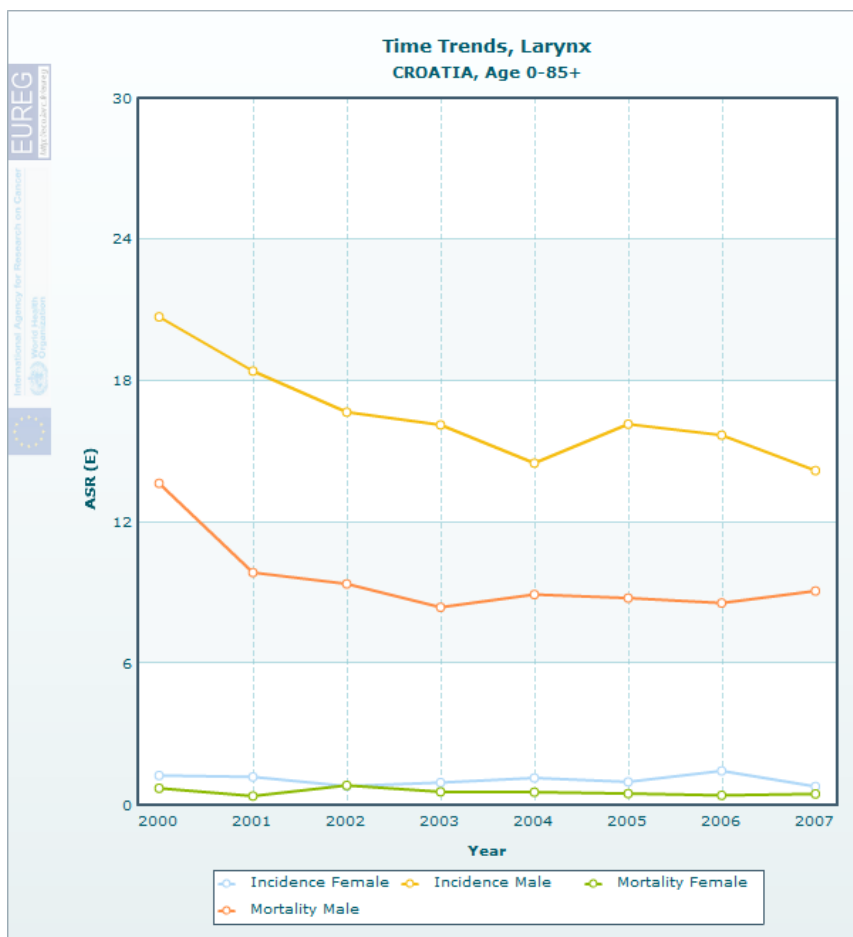
Prema podacima Registra za tumore Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) u 2010. od karcinoma grkljana oboljelo je 347 osoba, od toga 320 muškaraca i 27 žena. Učestalost karcinoma grkljana u Hrvatskoj u 2010. bila je 7,9 novooboljelih na 100 000 stanovnika, 15 za muškarce i 1,2 za žene (4). Prema izračunu EUCAN-a procijenjena učestalost karcinoma grkljana u Europskoj uniji za 2012. iznosi 4,4 novooboljela na 100 000 stanovnika (8,3 muškarci i 0,9 žene), a Hrvatska zauzima sedmo mjesto u Europi (slika 1.1.1.) (5).

Estimated incidence & mortality from laryngeal cancer in both sexes, 2012



Slika 1.1.1. Procjena učestalosti i smrtnosti od karcinoma grkljana u Europi u 2012.

Broj novooboljelih u laganom je padu (slika 1.1.2.) (5), osim među mlađim bolesnicima, što je posljedica porasta infekcije humanim papiloma virusom (HPV) (6, 7), no petogodišnje preživljenje prema većini registara razvijenih zemalja iznosi oko 65% za sve stadije proširenosti bolesti i nije se značajno mijenjalo posljednjih četrdesetak godina (8, 9).



Slika 1.1.2. Učestalost i smrtnost od karcinoma grkljana u Hrvatskoj od 2000. do 2007.

Prema izračunu EUCAN-a za Hrvatsku u 2012. godini mortalitet od karcinoma grkljana iznosi 3,4 (7,2 muškarca i 0,5 žena) (slika 1.1.1.) (5). Karcinom grkljana najčešći je u šestom i sedmom desetljeću života (4). Samo 1% slučajeva karcinoma grkljana pojavljuje se u osoba mlađih od 30 godina, a u literaturi su opisani i sporadični slučajevi u djece bez rizičnih čimbenika (9-10). Češće obolijevaju muškarci nego žene (4, 5, 8). U SAD-u od 1973. do 2002. odnos oboljelih muškaraca prema ženama smanjio se sa 6:1 na 3,5:1, kako se izjednačio broj konzumenata cigareta i alkohola među muškarcima i ženama (11).

Brojni rizični čimbenici pridonose razvoju karcinoma grkljana: konzumacija cigareta i alkohola, ionizacijsko zračenje, termičko oštećenje sluznice, kronične upale, HPV infekcija, laringofaringealni refluks, hrana siromašna voćem i povrćem te profesionalna izloženost azbestu, sulfiričnoj kiselini i kemikalijama koje se koriste u industriji za preradu gume (12-19). Najznačajniji rizični čimbenik jest konzumacija cigareta koja povećava rizik nastanka karcinoma grkljana za 5-25 puta, ovisno o duljini pušačkog staža i broju popušanih cigareta. A za osobe koje konzumiraju i cigarete i alkohol taj se rizik povećava na 40 puta (13, 14).

Prema nekim istraživanjima čak 85% karcinoma grkljana posljedica je konzumacije cigareta i alkohola, pri čemu alkohol ima veću ulogu u razvoju karcinoma supraglotisa, u odnosu na karcinome glotisa i subglotisa (19, 20). Nažalost, i uz poznate čimbenike rizika i dobro razvijene dijagnostičke metode više od polovice karcinoma grkljana dijagnosticira se u uznapredovalom stadiju (19).

## **1.2. Modaliteti liječenja karcinoma grkljana**

Ovisno o proširenosti karcinoma, pridruženim bolestima te općem stanju bolesnika planira se način liječenja. Tri su modaliteta liječenja karcinoma grkljana: kirurški zahvat, radioterapija (RT) i kemoterapija (KT). U liječenju sudjeluje cijeli onkološki tim koji obuhvaća kirurga glave i vrata, radiologa, citologa, patologa, onkologa radioterapeuta, internističkog onkologa i logopeda.

S obzirom na veličinu tumora i nisku učestalost metastaza kod ranog karcinoma grkljana, funkcionalna kirurgija grkljana je obvezatna, a lokalna kontrola bolesti je odlučujući prognostički čimbenik. Sedamdesetih godina 20. stoljeća razvila se otvorena funkcionalna kirurgija grkljana koja obuhvaća cijeli niz kirurških metoda odstranjenja tumora, parcijalnih laringektomija i rekonstrukcije ostatka grkljana radi potpunog ili djelomičnog očuvanja svih triju funkcija grkljana - disanja, gutanja i govora. U otvorene parcijalne laringektomije ubrajaju se laringofisure, transcervikalne kordektomije, horizontalne i vertikalne hemilaringektomije, te  $\frac{3}{4}$  i *near-total* laringektomije. Otvorenim funkcionalnim operacijama kod ranog karcinoma grkljana postiže se lokalna kontrola bolesti u 90%-95% bolesnika za T1 stupanj te u 70%-90% bolesnika za T2 stupanj (21). Najčešće komplikacije kirurškog liječenja su granulacije i adhezije, aspiracija i edem grkljana. Primarnom RT postiže se lokalna kontrola bolesti u 85%-94% bolesnika s T1 karcinomom i 70%-80% s T2 karcinomom. Na uspjeh RT negativno utječu viši T stupanj, produženo trajanje RT, muški spol, anemija prije početka liječenja, veći stadij uznapredovalosti bolesti i dnevna radijacijska doza manja od 2 Graya (22). Funkcionalna kirurgija grkljana dobila je još više na značenju uvođenjem endoskopske laserske kirurgije, kojom se uz minimalnu invazivnost postigao jednak terapijski uspjeh. Lokalna kontrola bolesti postignuta je u 80%-90% bolesnika s T1 tumorom i 70%-85% s T2 tumorom, uz stupanj očuvanja grkljana preko 95% (23). Nedostatci ovog kirurškog liječenja su, uz mogućnost nastanka granulacija i adhezija kao posljedice uklanjanja tumora, i mogućnost opeklina i oštećenja tubusa koje se mogu minimalizirati pridržavanjem sigurnosnih mjera. Lokalna kontrola bolesti, ukupno preživljenje te stupanj

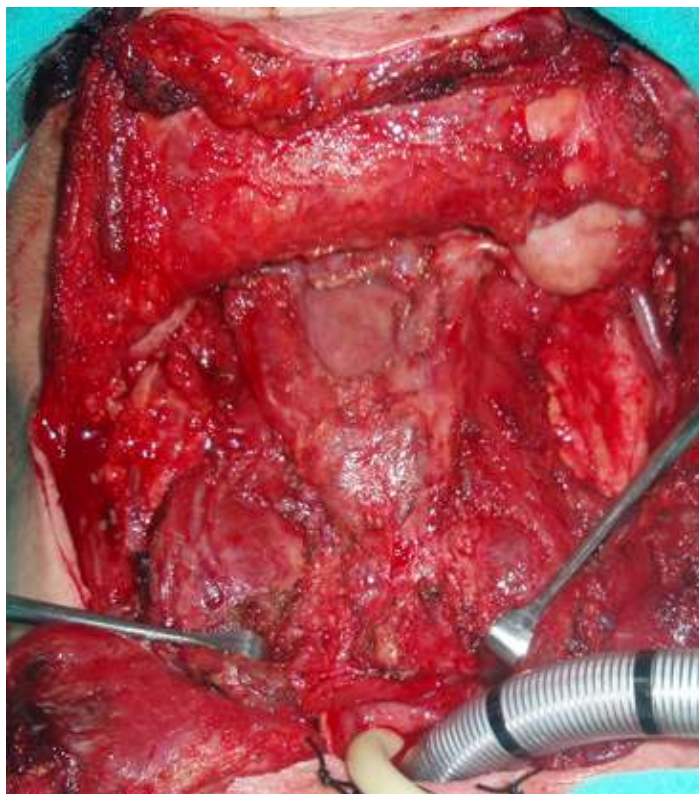
očuvanja laringealnog govora jednako se uspješno postižu sa svim prethodno navedenim oblicima liječenja, osim u bolesnika u kojih je zahvaćena prednja komisura, koji nakon transoralnog pristupa imaju veći broj recidiva nego nakon RT. Također je liječenje otvorenim pristupom uspješnije u bolesnika s T2 tumorima na teško dostupnim lokalizacijama. Transoralna resekcija tumora i RT imaju podjednaku učestalost komplikacija, dok su komplikacije značajno češće kod otvorenog pristupa. Kvaliteta glasa bolja je nakon RT ili laserske resekcije (24, 25).

U uznapredovale karcinome grkljana ubrajamo karcinome T3 i T4 stupnja. Zlatni standard u liječenju uznapredovalih karcinoma grkljana u prošlom je stoljeću bila totalna laringektomija s disekcijom vrata (selektivnom ili radikalnom), te postoperativna RT. Uz takav terapijski protokol petogodišnje preživljenje bilo je oko 50%. Kod inoperabilnih karcinoma primjenjivala se neoadjuvantna RT 66-76 Gy (26). Kako su posljedice totalne laringektomije značajno negativno utjecale na kvalitetu bolesnika, 90-tih godina 20 st. razvio se novi smjer u liječenju uznapredovalih karcinoma grkljana, tzv. strategija očuvanja grkljana - *larynx preservation strategy* (LPS). LPS je obuhvaćala dva načina liječenja: RT s indukcijskom KT (IKRT) ili konkomitantnu kemoradioterapiju (KKRT). „The Department of Veterans Affairs Laryngeal Cancer Study Group“ bilo je prvo i jedno od najvažnijih istraživanja koje je dokazalo da nekirurške metode imaju podjednaku uspješnost u liječenju uznapredovalih karcinoma grkljana u odnosu na totalnu laringektomiju s disekcijom vrata i postoperativnom RT. Nakon toga uslijedio je cijeli niz istraživanja, meta-analiza, čiji su podaci više ili manje bili u prilog IKRT ili KKRT. Nekirurške metode liječenja stalno se mijenjaju i poboljšavaju, iako su postignuti zadovoljavajući rezultati očuvanja grkljana, ne treba zanemariti teške i brojne komplikacije liječenja. Također, uočeni su brojni nedostaci studija koje govore u prilog nekirurškim metodama, a 2006. i 2007. objavljena su istraživanja prema kojima je ukupno preživljenje bolesnika s uznapredovalim karcinomom grkljana u padu, te bolesnici s T4 tumorom nakon totalne laringektomije imaju značajno bolje preživljenje u odnosu na bolesnike nakon IKRT ili KKRT (27, 28). Nekritički entuzijizam nekirurškim metodama rezultirao je većom incidencijom terapijske toksičnosti, većim brojem *salvage surgery* s puno više komplikacija nego inicijalna totalna laringektomija, manjim brojem parcijalnih laringektomija i manjim ukupnim izlječenjem (27). Stoga su 2010. objavljeni zaključci međunarodnog panela stručnjaka iz područja onkološke kirurgije glave i vrata, radioterapeuta i onkologa glave i vrata, nakon reevaluacije kliničkih istraživanja o LPS-u, te dane uniformne preporuke za buduća istraživanja. Članovi međunarodnog panela

zaključili su da LPS postiže najbolje rezultate u bolesnika s T2-T3 tumorom, bez znakova disfunkcije grkljana i koji nisu kandidati za parcijalnu laringektomiju. Bolesnici s T4 tumorom, posebice onim koji zahvaća hrskavicu i meka tkiva vrata, nisu kandidati za LPS (29). Iz prethodnog je vidljivo da danas ne postoji zlatni standard u liječenju uznapredovalog karcinoma grkljana iako je kirurško liječenje, posebno totalna laringektomija, još uvijek jedan od osnovnih načina liječenja bolesnika s uznapredovalim karcinomom grkljana. Liječenje treba biti individualizirano, ovisno o općem stanju bolesnika, stadiju proširenosti bolesti, brojnim sociološkim i kulturološkim aspektima te dostupnosti pojedinih modaliteta liječenja (30).

### **1.2.1. Totalna laringektomija**

Prvu totalnu laringektomiju zbog karcinoma grkljana izveo je austrijski kirurg Theodor Billroth 1873. godine (31). Od tada su objavljene različite modifikacije ovog kirurškog zahvata s ciljem povećanja perioperativnog i intraoperativnog preživljenja smanjenjem intraoperativnog i postoperativnog krvarenja, formiranjem urednog dišnog i probavnog puta te posljednjih dvadesetak godina i poboljšanjem kvalitete alaringealnog glasa. Operacija se izvodi u općoj anesteziji uz prethodno učinjenu traheotomiju. Grkljan se prepariranjem oslobodi od okolnih struktura, podveže se gornja laringealna arterija i krikotiroidna grana gornje štitne arterije, te se jezična kost odvoji od suprahoidnih mišića. Ovisno o lokalizaciji tumora, grkljan se u cijelosti zajedno s jezičnom kosti odstranjuje odozgo prema dolje otvaranjem ždrijela u području valemula kod subglotičnih tumora, ili odozdo prema gore otvaranjem dušnika kod supraglotičnih tumora (slika 1.2.1.1.). Time se postiže bolja preglednost i izbjegava ulazak kirurških instrumenata u tumorsko područje i mogućnost kirurške implantacije tumora. Nakon postavljanja nazogastrične sonde defekt hipofarinksa primarno se zatvara u tri sloja, a šav može biti u obliku slova T, Y, I ili horizontalni ovisno o količini ostatne sluznice i mišića hipofarinksa i jednjaka te silama napetosti. Način rekonstrukcije hipofarinksa i gornjeg dijela jednjaka u postoperativnom razdoblju utječe na funkciju gutanja, mogućnost razvoja faringokutane fistule ali i stvaranje alaringealnog glasa jer upravo u tom dijelu prijelaza jednjaka u hipofarinks dolazi do vibracije sluznice strujom zraka. Na kraju operativnog zahvata formira se trajna traheostoma šivanjem kože uz slobodni rub hrskavice koso prerezanog dušnika. Time se trajno odvaja dišni od probavnog puta. Neposredno nakon operativnog zahvata u područje traheostome postavlja se endotrahealna kanila s izmjenjivačem topline i vlažnosti (*Heat and Moisture Exchanger* - HME) (slika 1.2.1.2.).



Slika 1.2.1.1. Defekt hipofarinksa nakon uklanjanja grkljana. Izvor: Đanić D.



Slika 1.2.1.2. Izmjenjivač topline i vlage (HME). Izvor: Đanić D.

HME omogućuje zagrijavanje i ovlaživanje udahnutog zraka koji sada direktno, bez prolaska kroz nos i ždrijelo i grkljan, ulazi u dušnik. Time se smanjuje isušivanje sluznice dušnika i bronha, smanjuje se proizvodnja sekreta te omogućuje lakše čišćenje i održavanje

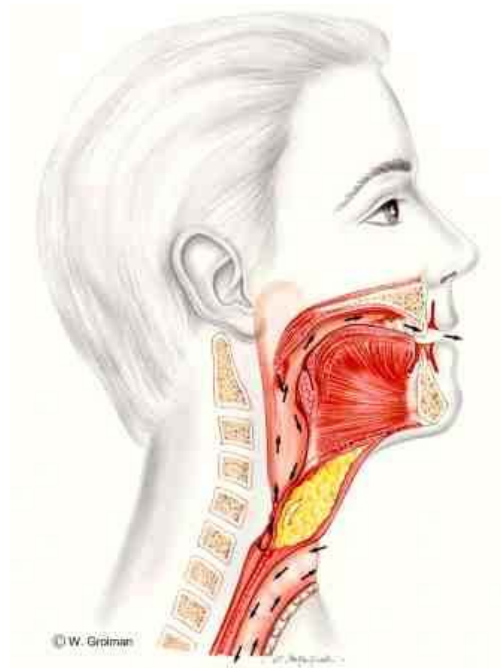
prohodnosti dišnog puta (32). Postavljanjem HME već u vrlo ranom postoperativnom razdoblju značajno se poboljšava opće stanje i kvaliteta života bolesnika jer olakšava disanje, smanjuje kašalj i potrebu za čišćenjem dišnog puta koja ga dodatno nadražuje, a neposredno se smanjuje i postoperativna bolnost koja je najjača zbog jakog forsiranog kašljanja i napinjanja (33, 34).

### **1.3. Rehabilitacija glasa nakon totalne laringektomije**

Gubitak glasa nakon totalne laringektomije značajno utječe na psihosocijalno stanje bolesnika i uvelike narušava njegovu kvalitetu života. Stoga je već i Billroth nakon učinjene prve totalne laringektomije glasovno rehabilitirao bolesnika formiranjem traheozofagealne fistule (31). Od tada se različitim metodama pokušala ostvariti uspješna rehabilitacija glasa. Danas postoje tri mogućnosti rehabilitacije glasa nakon totalne laringektomije: ezofagealni govor, umjetni grkljan i traheozofagealni govor pomoću govorne proteze (GP).

#### **Ezofagealni glas**

Ezofagealni glas poznat je više od 100 godina, najstariji je i najprirodniji oblik alaringealnog glasa. Zrak se gutanjem, injekcijom ili aspiracijom ubacuje u jednjak, a glas se dobiva voljnom eruktacijom zraka iz rezervoara u jednjaku u područje faringozofagealnog segmenta gdje dolazi do titranja sluznice (slika 1.3.1.).



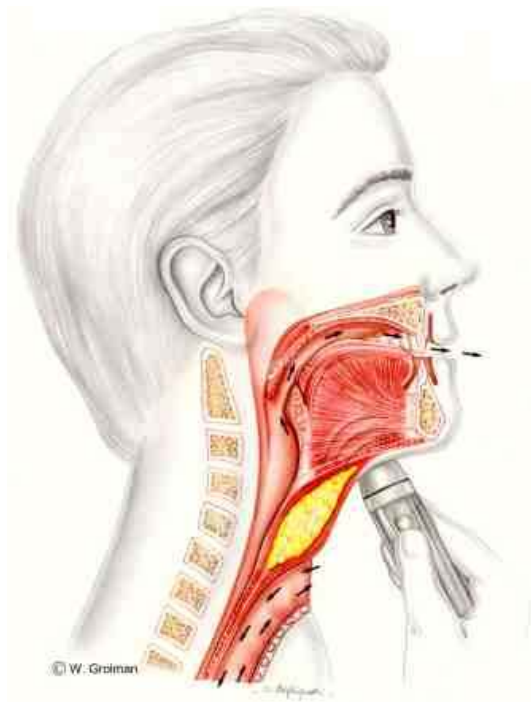
Slika 1.3.1. Ezofagealni glas. Izvor: Grolman W. URL: <http://www.origin8.nl>.



Govor zatim nastaje normalnom artikulacijom ezofagealnog glasa. Bolesnici koji uspješno usvoje ovaj način govora imaju prirodan glas, neovisan o ispravnosti drugih pomagala poput elektrolarinksa i GP, te nisu potrebni dodatni kirurški zahvati. Govor je spontan, razumljiv i bez šuma traheostome, bez facijalno-oralnih gestikulacija i bolesnik ima slobodne ruke. Osnovna frekvencija glasa je niska, oko 65 Hz, a govor često isprekidan, kratkotrajan i zahtijeva određeni napor. Rehabilitacija je dugotrajna, u prosjeku 6-12 mjeseci, provodi se pod nadzorom logopeda, i svega 5%-30% bolesnika usvoji ezofagealni govor. Na uspješnost rehabilitacije utječu opće fizičko stanje bolesnika, način rekonstrukcije faringoezofagealnog segmenta, funkcija gornjeg sfinktera jednjaka, inteligencija, motivacija i psihološki status bolesnika, status sluha i kvaliteta podučavanja.

### **Umjetni grkljan**

Umjetni grkljan je instrument koji služi kao izvor glasa. S obzirom na izvor napajanja razlikujemo električni i pneumatski. Postoje tri tipa elektrolarinksa. Elektrolarinks koji je najčešće u upotrebi u Hrvatskoj prislanja se na vrat i pritiskom na gumb nastaje mehanički zvuk koji se preko ostalih struktura grla prenosi do jezika, usta i zuba gdje se normalnom artikulacijom proizvodi govor (slika 1.3.2).



Slika 1.3.2. Elektrolarinks. Izvor: Grolman W. URL: <http://www.origin8.nl>.

Gilbert Wright 1942. posve je slučajno otkrio elektrolarinks, brijući se aparatom za brijanje i prislonivši ga uz vrat, primijetio je da se pri pokušaju artikulacije uz zadržavanje daha pojavljuje razumljiv govor (35). Drugi tip elektrolarinksa pomoću sonde prenosi zvuk direktno u usta. Koriste ga bolesnici čiji vrat ne prenosi dobro električni zvuk ili u ranom postoperativnom razdoblju dok rane na vratu nisu u potpunosti zacijelile. Treći, najnoviji tip elektrolarinksa, sastoji se od dviju jedinica. Izvor zvuka smješten je intraoralno poput zubne proteze i aktivira se radio valovima preko kontrolne jedinice, ručno ili jezikom (36). Kod pneumatskog umjetnog grkljana struja zraka iz pluća prenosi se preko sonde prislonjene na traheostomu i izaziva vibracije elastičnih trakica koje su izvor zvuka, koji se zatim drugom sondom prenosi direktno u usta (slika 1.3.3.).

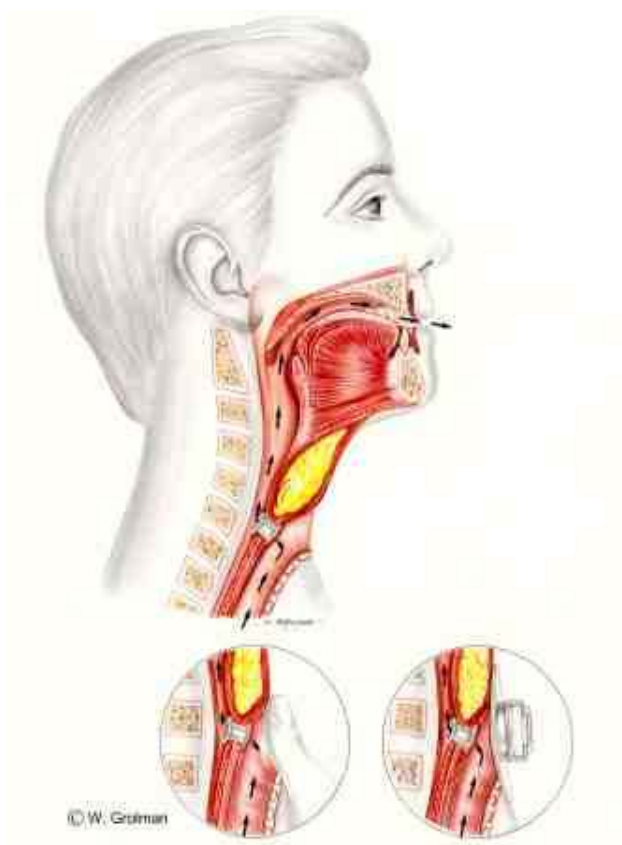


Slika 1.3.3. Pneumatski umjetni grkljan. Izvor: Chen HC, 2010 (37).

Ovaj instrument još je uvijek u upotrebi u azijskim zemljama gdje je promjena intonacije u govoru jako važna za razumijevanje jezika poput mandarinskog i tajvanskog (37). Prednosti umjetnog grkljana su laka i brza rehabilitacija glasa i govora, instrument je lako dostupan i omogućuje glasan i tečan govor. Veliki je nedostatak umjetnog grkljana neprirodan metalni glas i teže razumljiv govor koji je slušaču vrlo neugodan te je otežan socijalni kontakt, bolesnik je često negativno stigmatiziran i izložen dječjem izrugivanju. Osobi koja ga koristi zauzeta je jedna ruka i mora paziti na ispravnost baterija.

### Traheozofagealni glas s govornom protezom

Danas je traheozofagealni govor s GP zlatni standard u rehabilitaciji laringektomiranih bolesnika. Glas se postiže kroz fistulu koja se formira na stražnjem zidu dušnika i prednjem zidu jednjaka te omogućuje direktnu komunikaciju između dušnika i gornjeg dijela jednjaka. Kroz fistulu se postavlja GP koja omogućuje jednosmjerni prolazak zraka iz dušnika u jednjak a sprečava aspiraciju sadržaja iz jednjaka (slika 1.3.4.).



Slika 1.3.4. Traheozofagealni glas s GP. Izvor: Grolman W. URL: <http://www.origin8.nl>.

Bolesnik može proizvesti glas neposredno nakon operativnog zahvata i razbuđivanja, a rehabilitacija glasa i govora obično započinje nakon što se bolesniku izvadi nazogastrična sonda, kad bolesnik počne samostalno jesti 7-10 dana poslije operacije. Rehabilitacija je kratkotrajna i vrlo uspješna (70%-90%) (38, 39). Analize intenziteta glasa, osnovne frekvencije i vremena fonacije potvrđuju da je traheozofagealni glas akustički sličniji normalnom glasu i da je razumljiviji i prihvatljiviji od ezofagealnog glasa (40-42). Bolesniku je obično zauzeta jedna ruka kako bi zatvorio traheostomu i usmjerio zrak kroz GP, pri tome bolesnik mora naučiti dobro zatvoriti traheostomu jer curenje zraka stvara šum koji znatno

narušava komunikaciju. Postoje i automatski govorni ventili kojima se omogućuje govor sa slobodnim rukama. GP potrebno je redovito čistiti i mijenjati, ovisno o dizajnu za što je potrebna dobro formirana ali ne prevelika traheostoma, dobar vid i sigurne ruke.

### **1.3.1. Formiranje traheozofagealne fistule**

Formiranje komunikacije između dušnika i gornjeg dijela jednjaka i hipofarinksa bilo je poznato od prve laringektomije, a 70-tih i 80-tih kirurške metode poput Conlyjeve, Asaijeve, Staffierijeve, Amatsuove omogućile su formiranje funkcionalne fistule i traheozofagealni govor (43-46). Veliki nedostatak prethodnih tehnika bile su upale pluća kao posljedica aspiracije ili zatvaranje i stenoza fistule, posebice nakon radioterapije. Stoga su te kirurške metode smatrane neuspješnim i opasnim za bolesnike. Tek se razvojem proteze s jednosmjernim ventilnim mehanizmom koja je postavljena kroz traheozofagealnu fistulu (TEF) omogućilo dugotrajno uspješno stvaranje glasa i sprečavanje aspiracije. Uspješnost ove metode počiva na tri principa: 1. proteza održava otvoren put između jednjaka i dušnika, 2. omogućuje ulazak zraka iz pluća i traheje u jednjak i faringozofagealni segment gdje nastaje glas i 3. automatsko zatvaranje zaliska sprečava aspiraciju. TEF se može formirati primarno, za vrijeme totalne laringektomije i sekundarno, nakon više mjeseci ili godina od totalne laringektomije.

#### **Primarno formiranje traheozofagealne fistule**

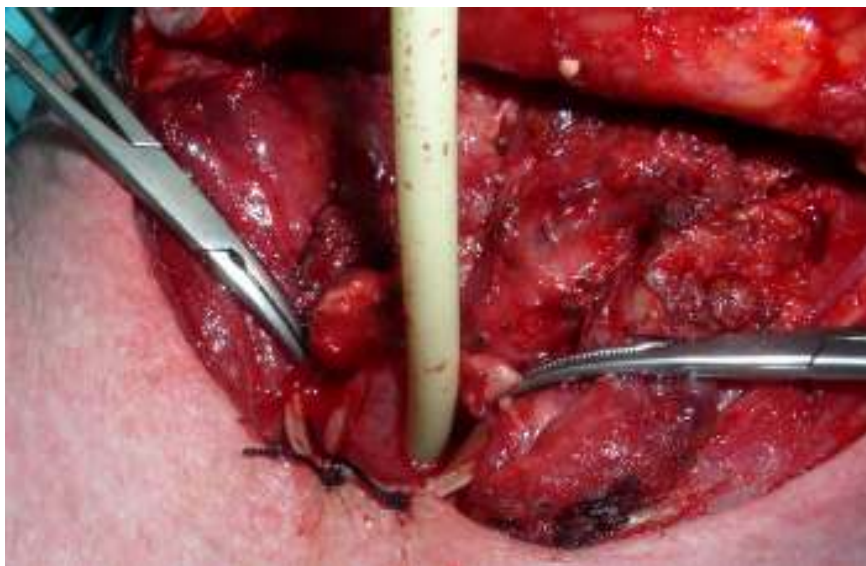
Prvo primarno formiranje TEF objavili su Maves i Lingeman i Hamaker početkom 80-tih (47, 48), te postoji nekoliko modifikacija tog postupka a danas se za primarno formiranje TEF koriste dva kirurška postupka.

U kirurškom postupku koji su predstavili Nijam i suradnici, neposredno nakon uklanjanja grkljana i stabiliziranja traheostome s nekoliko povratnih šavova uz donji kožni režanj a prije zatvaranja defekta hipofarinksa, u gornji dio cervikalnog jednjaka postavlja se kanila koja otvara lumen i štiti stražnju stijenku jednjaka. Troakrom se kroz traheostomu formira fistula na stražnjem zidu dušnika u razini 4-5 prstena. Iz troakara se izvuče igla a kroz troakar koji održava lumen fistule provuče se elastična vodilica do defekta u hipofarinksu. Troakar se ukloni a na vrh elastične vodilice pričvrsti se govorna proteza koja se zatim retrogradno povuče u jednjak te iz jednjaka postavi uz pomoć peana u TEF (slika 1.3.1.1.) (49).



Slika 1.3.1.1. Primarno formiranje TEF i retrogradno postavljanje GP. Izvor: Đanić D.

Drugi kirurški postupak usavršili su Hamaker i Singer, takozvano primarno formiranje TEF s odgođenim postavljanjem GP. Oni su nakon uklanjanja grkljana kroz defekt hipofarinksa u gornji dio cervikalnog jednjaka postavili veliki zakrivljeni pean s vrhom 1 cm ispod gornjeg stražnjeg ruba traheostome. Membranozni dio dušnika zasiječe se u kraniokaudalnom smjeru u dužini 3 do 4 mm preko vrha peana i formira TEF. Kroz fistulu se vrhom peana primi Folijev kateter veličine 16 Fr koji održava lumen fistule te služi i kao sonda za hranjenje (slika 1.3.1.2.), a GP se postavlja u TEF nakon 7-8 dana (48, 50).



Slika 1.3.1.2. Primarno formiranje TEF i odgođeno postavljanje GP. Izvor: Đanić D.

## **Sekundarno formiranje traheozofagealne fistule**

Sekundarnom formiranju TEF može se pristupiti najranije šest tjedana nakon totalne laringektomije ili šest do osam tjedana nakon postoperativne radioterapije, odnosno do oporavka peristomalne kože od radiotoksičnosti ili barem jedan mjesec od totalne laringofaringektomije i laringofaringoezofagektomije s rekonstrukcijom. Kod sekundarnog formiranja TEF uz standardnu pripremu bolesnika potrebno je utvrditi veličinu traheostome, isključiti stenozu jednjaka i spazam konstriktora ždrijela. Traheostoma bi trebala biti najmanje 1 cm u promjeru, idealno 2,5-3 cm. Mala traheostoma onemogućit će sekundarno formiranje TEF i kasnije izmjenu GP, dok će prevelika traheostoma onemogućiti urednu okluziju prstom ili HME te uzrokovati šuštanje tijekom govora koje značajno ometa komunikaciju. Stenoza jednjaka i rekonstruiranog dijela hipofarinksa onemogućit će postavljanje krutog ezofagoscopa neophodnog u formiranju sekundarne TEF, što se može preoperativno utvrditi radiološkom analizom akta gutanja barija. Spazam konstriktora ždrijela otežat će ili onemogućiti nastanak glasa u ezofagofaringealnom segmentu. Sekundarno formiranje TEF je ranije poznata endoskopska metoda (44). U općoj anesteziji kruti ezofagoskop se kroz rekonstruirani hipofarinks postavi u cervikalni dio jednjaka. Pritom se pregleda sluznica jednjaka i zabilježe moguće nepravilnosti sluznice, stenozе i ulceracije. Zatim se na razini traheostome ezofagoskop rotira za 180° s otvorom prema dušniku. Položaj ezofagoscopa provjerava se palpacijom membranoznog dijela dušnika i prosvjetljivanjem kroz traheostomu. Velikom zakrivljenom iglom učini se punkcija na stražnjem zidu dušnika 5-10 mm od gornjeg ruba traheostome. Pogledom kroz ezofagoskop uočava se vrh igle i usmjerava u lumen instrumenta pri čemu stražnji duži zid ezofagoscopa štiti stražnji zid jednjaka od perforacije. Preko igle se uvodi intravenski kateter koji se kroz ezofagoskop i s ezofagoskopom izvuče u usta. Na kateter se pričvrsti GP koji se zatim retrogradno kroz jednjak i TEF izvuče, a GP se pomoću malih peana postavi u TEF. Umjesto GP na kraj katetera se može pričvrstiti i urinarni kateter koji se također retrogradno provuče kroz fistulu i služi za privremenu dilataciju TEF te se GP proteza postavi nakon 7-8 dana, tzv. sekundarno odgođeno postavljanje GP.

### **1.3.2. Govorna proteza**

Prve proteze, od Teflona i Dacrona, ušivane su eksperimentalno u dušnik pasa no izazivale su jaku upalnu reakciju jednjaka i traheje i nisu se mogle čistiti od sekreta. Prvi rad o uspješnoj govornoj rehabilitaciji bolesnika s GP objavio je 1972. godine poljski otorinolaringolog Mozolewski (51). Godine 1975. Blom je konstruirao GP za komercijalnu

upotrebu takozvanu „duckbill“ GP. Proteza je bila silikonska i nije izazivala reakcije stranog tijela u jednjaku i traheji, te je stabilno stajala u fistuli pomoću ovratnika dodanog na prednji kraj proteze (52) (slika 1.3.2.1).



Slika 1.3.2.1. Prototip prve „duckbill“ GP, koju je 1975. napravio Eric D. Blom u Indianapolisu. Izvor: <http://www.voiceprotheses.com/technology/non-indwelling-protheses>.

Nakon njih mnogi drugi su razvili različite vrste GP s različitim dizajnom valvule: Panja, Groningen, Herrmann, Traissac, Algaba, Provox, Nijdam, Voicemaster. Danas su najčešće u upotrebi dva tipa GP. Jedan tip su GP koje bolesnik sam svakodnevno mijenja radi čišćenja, tzv. non-indwelling GP (slika 1.3.2.2.).



Slika 1.3.2.2. GP koje bolesnik samostalno svakodnevno mijenja i čisti. Izvor: <http://dribrook.blogspot.com/p/tracheo-esophageal-voice-prosthesis-tep.html>.

U Europi se uglavnom koriste dugostojeće GP koje u TEF mogu stajati nekoliko mjeseci te ih mijenja liječnik (slika 1.3.2.3.).





Slika 1.3.2.3. Dugostojeća GP koju mijenja liječnik. Izvor: <http://atosmedical.com>.

Trajanje govorne proteze određeno je curenjem tekućine kroz GP i pojačanim otporom prolasku zraka kroz GP. Životni vijek GP prema većini zapadnoeuropske literature je 3-6 mjeseci, no prema nekim istraživanjima, posebice u mediteranskim zemljama i SAD-u, zabilježeno je i značajno duže trajanje proteza, 10-18 mjeseci, uglavnom zbog malog broja bolesnika s izrazito dugim vijekom trajanja, najduže čak 11,5 godina (53, 54). Prednost je dugostojećih proteza što ih mogu koristiti i bolesnici starije životne dobi i lošijeg općeg stanja, a promjena GP vrši se za vrijeme redovitih onkoloških kontrolnih pregleda. Otkako je razvijena anterogradna metoda, promjena GP je brz i jednostavan i za bolesnika značajno manje neugodan postupak koji se obavlja ambulantno. Danas su na hrvatskom tržištu zastupljeni različiti proizvođači GP s nekoliko vrsta GP. GP se razlikuju po svojoj veličini, točnije dužini od 4 do 22 mm, najčešće se koriste od 6, 8 ili 10 mm te po vanjskom promjeru od 16 do 22,5 Fr. Također postoje GP sa srebrnim oksidom koje smanjuje rast biofilma, GP s magnetskim valvulama ili dvostrukim valvulama koje sprečavaju nenamjerno otvaranje valvule prilikom inspirija i curenje kroz GP, te sa širim prirubnicama za sprečavanje curenja oko GP.

U Hrvatskoj su 2002. godine otorinolaringolozi prim. Danijel Došen, prof. dr. sc. Davorin Đanić, prof. dr. sc. Mirko Ivkić, prim. Mario Kovačić i prof. dr. sc. Drago Prgomet, nakon edukacije kod prof. Hilgersa u Amsterdamu i prof. Bloma u SAD-u, započeli postavljanje GP kroz TEF. Godine 2005. održan je prvi tečaj o rehabilitaciji glasa i govora traheozofagealnim govorom s GP u Slavonskom Brodu, nakon kojeg je traheozofagealni govor s GP postao zlatni standard u rehabilitaciji glasa i govora laringektomiranih bolesnika u Hrvatskoj.



### **1.3.3. Uspješnost rehabilitacije traheozofagealnog glasa i govora s govornom protezom**

Uspješnost rehabilitacije traheozofagealnog govora s GP je od 70% do 90% (38, 39). Varijabilnost rezultata proizlazi iz različitih kriterija koji su korišteni za mjerenje uspješnosti rehabilitacije traheozofagealnog glasa i govora. Najveći broj istraživanja analizirao je kvalitetu glasa. Pri tome su korišteni različiti mjerni instrumenti perceptivne procjene glasa, akustička i spektrografska analiza glasa ili upitnici samoprocjene glasa. Među objavljenim istraživanjima maksimalno vrijeme fonacije kretalo se u rasponu od 6,6 do 13 sekundi (55-58). Dokazano je da vrijednosti frekvencija osnovnog tona, raspona, intenziteta, *jittera*, *shimmera*, te omjera signal-šum više odgovaraju vrijednostima normalnog laringalnog glasa u odnosu na ezofagealni glas (55-60). Također su i spektrometrijske značajke traheozofagealnog glasa opsežno proučavane, te je uočena stabilnija frekvencija osnovnog tona i jasnije definirani harmonici u odnosu na ezofagealni glas (60-64).

Godine 1992. Harrison i Robillard-Schultz su objavili mjernu skalu koja obuhvaća tri važna parametra traheozofagealnog govora s GP (65). Prvi se odnosi na upotrebu traheozofagealnog glasa u svakodnevnoj komunikaciji. Drugim se određuje kvaliteta glasa, točnije lakoća izvođenja i razumljivost koja je određena tečnošću i mogućnošću okluzije. I treći parametar obuhvaća postupke samostalnog održavanja GP (tablica 1.3.3.1.).

Tablica 1.3.3.1. HRS skala

Harrison - Robillard-Schultz skala
<p><b>Stupanj upotrebe</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. nikada ne koristi traheozofagealni govor (0%).</li> <li>2. koristi traheozofagealni govor manje od 50% pokušaja komunikacije.</li> <li>3. koristi traheozofagealni govor u 50-80% pokušaja komunikacije.</li> <li>4. koristi traheozofagealni govor uz ručnu okluziju kao glavno sredstvo komunikacije.</li> <li>5. koristi traheozofagealni govor uz automatsku valvulu traheostome kao glavno sredstvo komunikacije.</li> </ol>
<p><b>Kvaliteta glasa</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ne dobiva glas, ne koristi zrak iz pluća za govor.</li> <li>2. Glas je prenapet ili prepneumofoničan te ne omogućuje razumljivu konverzaciju, uključuje i šapat.</li> <li>3. Stoma je loše okludirana te šuštanje zraka pored stome otežava razumljivost ili ometa slušača.</li> <li>4. Glas je blago napet, blago pneumofoničan, ali omogućuje komunikaciju, stoma je dobro okludirana, govor je razumljiv.</li> <li>5. Glas se lako dobiva, okluzija stome dobra, govor je razumljiv.</li> </ol>
<p><b>Samostalno održavanje GP:</b> a) zamjena govorne proteze  b) čišćenje proteze  c) prepoznavanje problema i traženje pomoći  d) naručivanje zaliha</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ne može učiniti ništa od prethodno navedenog</li> <li>2. Samostalno obavlja 1 od prethodne 4 funkcije</li> <li>3. Samostalno obavlja 2 od prethodne 4 funkcije</li> <li>4. Samostalno obavlja 3 od prethodne 4 funkcije</li> <li>5. Samostalno obavlja sve 4 funkcije</li> </ol>

Svaka kategorija sadrži od 1 do 5 bodova. Bodovi 1 i 2 smatraju se neuspješnim, 3 granično uspješnim, 4 i 5 uspješnim. Ukupni zbroj bodova za sva tri parametra iznosi od 3 do 15, a ukupni zbroj bodova od 12 i više smatra se granicom za uspješno savladanu rehabilitaciju traheozofagealnog govora s GP (65). U malom broju istraživanja korištena je HRS skala za mjerenje uspješnosti rehabilitacije traheozofagealnog govora s GP, rezultati koje su dobili kretali su se od 62% do 90% (66, 67). Hotz i suradnici dokazali su da nije bilo značajne razlike u procjeni uspješnosti rehabilitacije traheozofagealnog govora s GP između otorinolaringologa i logopeda (66).

### 1.3.4. Komplikacije vezane uz traheozofagealni govor s GP

Iako je postavljanje GP kroz TEF jednostavan kirurški postupak a govorna rehabilitacija bolesnika brza i uspješna, i danas se u svjetskoj literaturi opisuju različite komplikacije vezane uz traheozofagealni govor s GP koje se pojavljuju u 10%-60% bolesnika (54, 68, 69). Komplikacije mogu biti posljedica kirurškog zahvata a mogu se pojaviti u ranom i kasnom postoperativnom razdoblju, mogu biti vezane uz TEF ili uz GP.

## Komplikacije vezane uz kirurški postupak

U komplikacije koje su posljedica pojedinih postupaka tijekom kirurškog zahvata ubrajamo malu ili preveliku te duboku traheostomu, hipertonicitet ili hipotonicitet faringozofagealnog segmenta te nastanak pseudovalekule ili pseudoepiglottisa.

Mala stoma onemogućuje sekundarno formiranje TEF i promjenu GP. Stenoza traheostome može se spriječiti formiranjem zasebnog otvora na donjem kožnom režnju čuvajući kranijalni trahealni prsten intaktnim (70). Ako se zasiječe hrskavica traheje, gube se kolagenske sile napinjanja i traheja kolabira, što rezultira smanjenjem stome (71). Pažljivim ušivanjem kože za sluznicu dušnika sprečava se mogućnost lokalne infekcije i nastanka granulacija. Bolesnike s intaktnim hrskavičnim prstenom moguće je dekanilirati neposredno nakon operativnog zahvata kako bi se izbjegla iritacija sluznice traheje i nadražajni kašalj i napinjanje. U slučaju mikrostome može se učiniti dilatacija, većom kanilom, dilatatorom ili balon dilatacija, i postaviti „govorna“ kanila na čijem stražnjem zidu se nalaze perforacije kroz koje zrak prolazi do GP ili se stoma može kirurški proširiti tehnikom „latica“, Z-plastikom te različitim režnjevima (72-75). U slučaju prevelike stome teško se postiže okluzija i zrak koji šušti pokraj stome otežava govornu komunikaciju. Velika stoma može se smanjiti različitim plastično-rekonstruktivnim kirurškim tehnikama. Duboka stoma problem je za korištenje peristomalnih adheziva poput HME i automatske govorne valvule. Izrazito duboke stome najčešće su posljedica protruzije medijalnih dijelova mišića sternokleidomastoideusa koji se hvataju za prsnu kost. Resekcijom ovih hvatišta tijekom operativnog zahvata, prije zatvaranja kože, dobiva se ravna peristomalna regija za lakše prijanjanje adheziva. Nakon resekcije preporučenog dijela mišića nisu uočene promjene u njegovoj funkciji (76).

Najčešći uzrok nepostizanja tečnog ezofagealnog i traheozofagealnog govora je hipertonicitet faringozofagealnog segmenta zbog povišenog tonusa ili spazma konstruktora ždrijela ili krikofaringealnog mišića (77). Bolesnik je prilikom pokušaja foniranja izrazito napet i brzo se umara, glas se nikako ili jako teško dobiva a formiranje riječi gotovo je nemoguće. Ovaj problem može se spriječiti miotomijom gornjeg sfinktera jednjaka, odnosno krikofaringealnog mišića ili konstruktora ždrijela tijekom totalne laringektomije. Neki autori smatraju da je kratka prednja miotomija krikofaringealnog mišića do razine submukoze najuspješnija metoda u sprečavanju hipertoniciteta faringozofagealnog segmenta, a nakon

miotomije kirurg bez problema može rekonstruirati hipofarinks na željeni način, ušivanjem sluznice i mišića ždrijela ili prema potrebi režnjem (78). Drugi autori predlažu stražnju vertikalnu miotomiju konstriktora ždrijela. Tijekom totalne laringektomije ždrijelo se preko prsta ili dilatatora rotira, mišići se do submukoze zarežu u stražnjoj središnjoj liniji do baze jezika ili donjeg ruba režnja korištenog u rekonstrukciji (48, 50). Druga metoda u sprečavanju spazma je jednostrana neurektomija faringealnog plexusa (79). Neurektomijom se ne oštećuje stijenka ždrijela, mišići zadržavaju svoju elastičnost i prokrvljenost a uspješno se smanjuje njihova napetost i spazam. Neurektomija se izvodi nakon disekcije vrata a prije uklanjanja grkljana. U prostoru koji omeđuju rog štitne hrskavice i veliki rog jezične kosti nalazi se srednji konstriktor ždrijela i otvor između srednjeg i donjeg konstriktora kroz koji prolaze jedna do tri grane plexusa. Živci se identificiraju elektrostimulacijom pri čemu se dobiju fine kontrakcije mišića ždrijela koje se kreću od kranijalno prema kaudalno. Nakon identifikacije živci se koaguliraju i odvoje. Ovu metodu moguće je izvesti i nakon zatvaranja ždrijela ili kao sekundarni kirurški postupak. Kao što je prethodno bilo spomenuto kod sekundarnog formiranja TEF, jako je važno prijeoperativno odrediti tonus mišića ždrijela i utvrditi spazam. Iako ne postoji standardni protokol, u prijeoperativnoj pripremi laringektomiranog bolesnika može se učiniti test insuflacije jednjaka i videofluoroskopija s blokom faringealnog plexusa. Test insuflacije jednjaka subjektivna je procjena rastezljivosti jednjaka i ne smije se koristiti kao jedina dijagnostička metoda pri odlučivanju o eksploraciji vrata i relaksaciji konstriktora ždrijela. Videofluoroskopija s blokom faringealnog plexusa najuspješnija je metoda procjene spazma mišića ždrijela i indikator je uspješnosti terapije botulin toksinom A, miotomije konstriktora ždrijela ili neurektomije faringealnog plexusa (80). Kod sekundarne neurektomije nakon dilatacije hipofarinksa postupak se obavlja na suprotnoj strani od disekcije vrata ako je prethodno bila učinjena (79). Ako u postoperativnom razdoblju i s miotomijom postoji hipertonicitet faringozofagealnog segmenta, najmanje invazivna a uspješna metoda jest kemodenervacija botulin toksinom A. Nakon što je prethodno učinjena videofluoroskopija s lidokainskim blokom i na koži zabilježen hipertonični segment, 100 i.j. Botoxa ili 400 i.j. Dysporta injicira se u područje konstriktora ždrijela. Kad se postignu željeni rezultati, učinak je trajan (81), jer se u bolesnika koji iskusi tečan traheozofagealni govor uspostavlja neka vrsta „biofeedbacka“ kojom se zadržava željeni učinak.

Hipotonicitet faringozofagealnog segmenta također je stanje koje se pojavljuje izrazito rijetko ali značajno otežava govornu komunikaciju jer bolesnik može proizvesti tek

jedva čujni šapat. Razlog tomu može biti i nepažljiva neurektomija faringealnog pleksusa, a problem je moguće riješiti kirurškim postupkom korištenja dijela sternokleidomastoidnog mišića poput unutrašnjeg elastičnog zavoja (82). Bilo je pokušaja konzervativnog rješavanja problema pritiskom izvana prstom ili elastičnim zavojem, ali postupak je izrazito kompliciran za bolesnika jer mu zauzima obje ruke, jednu za stomu, drugu za pritisak na točno određeno mjesto, a elastična vrpca stvara izrazito neugodan osjećaj pritiska na vratu te ometa gutanje i lako se pomakne s određenog mjesta na kojemu treba vršiti pritisak (82).

Nastanak pseudovalkule ili pseudoepiglotisa ovisi o načinu šivanja defekta hipofarinksa, te je češće primijećen kod ravnih vertikalnih šavova. Stoga se preporučuje T oblik šava prilikom zatvaranja hipofarinksa nakon totalne laringektomije. U slučaju formiranja pseudoepiglotisa ili pseudovalkule potrebna je kirurška intervencija i ponovna rekonstrukcija hipofarinksa.

### **Komplikacije vezane uz traheozofagealnu fistulu**

U komplikacije vezane uz TEF ubrajaju se curenje sadržaja iz jednjaka oko proteze u dušnik, atrofija traheozofagealnog zida, povećanje promjera TEF, granulacije sluznice traheje, hipertrofija sluznice jednjaka te dislokacija GP. Ove komplikacije pojavljuju se u kasnijem postoperativnom razdoblju i najčešće isti bolesnik ima više komplikacija istovremeno jer će i atrofija i povećanje promjera fistule i dislokacija dovesti do curenja oko GP. Stoga, curenje oko GP jedna je od najčešćih komplikacija (slika 1.3.4.1.).



Slika 1.3.4.1. Curenje oko GP. Izvor: Đanić D.

Curenje oko GP može nastati i zbog predugačke GP koja ne može dobro brtviti fistulu; u tom slučaju dovoljno je promijeniti GP za kraću i curenje će prestati. Atrofija traheozofagealnog zida podrazumijeva smanjenje debljine stražnjeg zida traheje i prednjeg

zida jednjaka i skraćivanje TEF na manje od 4 mm, pri čemu najkraće GP od 4 i 4,5 mm ne mogu dobro brtviti fistulu i javlja se trajno curenje iz jednjaka u dušnik (76). Atrofija traheozofagealnog zida pojavljuje se u malom broju slučajeva, prema nekim autorima u svega 3% slučajeva izmjene GP te je primijećena veća učestalost ove komplikacije u bolesnika u kojih je provedena radioterapija (54). Povećanje promjera TEF najčešće je posljedica infekcije i nekroze zbog pritiska ili preduge incizije tijekom formiranja TEF (slika 1.3.4.2). Pod povećanjem podrazumijeva se promjer fistule veći od 9 mm.

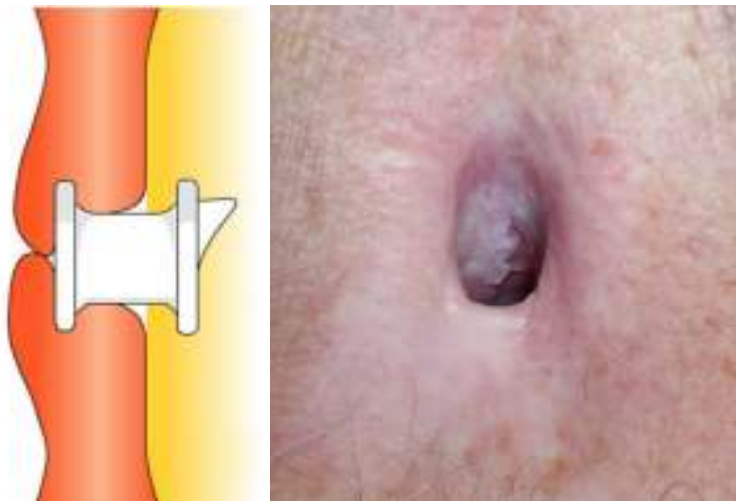


Slika 1.3.4.2. Povećanje dijametra TEF. Izvor: Đanić D.

pisano je nekoliko rješenja ovih problema. Jedna je mogućnost uklanjanje proteze i spontano sužavanje fistule kroz nekoliko dana (76). Ova metoda, iako jednostavna, poprilično je neugodna za bolesnika jer zahtijeva uvođenje nazogastrične sonde za hranjenje i postavljanje kanile s balonom kako bi se spriječila aspiracija sline. Druga je metoda postavljanje silikonskog brtvenog prstena koji se preko trahealne prirubnice uz pomoć dva peana postavi oko GP i priljubi uz sluznicu traheje (83) ili GP s većim prirubnicama. Ako su prve dvije metode bile neuspješne, moguće je postaviti šav kojim se sluznica nabere i stegne oko GP (84). Ova metoda nije trajna i nakon što se konac razgradi može ponovno doći do povećanja dijametra ili pak konac može izazvati blažu upalnu reakciju sa zadebljanjem tkiva čime se postigne trajno rješenje. Ako je ovaj postupak potrebno ponoviti više od dva do tri puta, treba razmišljati o trajnom povećanju traheozofagealnog zida koje se može postići autolognim presatkom masti ili nerazgradivim materijalom poput bioplastike koja dugotrajno daje bolje rezultate (85, 86). Na kraju, ako ni jedna od navedenih metoda ne daje zadovoljavajući rezultat, pristupa se trajnom zatvaranju fistule. S obzirom na to da je većina fistula potpuno epitelizirala potrebno je odvojiti sluznicu jednjaka i sluznicu traheje te fistulu zatvoriti u dva odvojena sloja (87). U slučaju jako fibroznog tkiva fistule, moguće je umetnuti

sternalnu glavu sternokleidomastoidnog mišića između jednjaka i dušnika ili pojačati pojedini sloj s vratnom fascijom (87). Nakon šest tjedana moguće je ponovno formirati TEF i postaviti GP. U najtežim slučajevima, izrazito široke fistule mogu se zatvoriti reznjem velikog pektoralnog mišića i fascije ili slobodnim podlaktičnim reznjem, no ne postoji standard u liječenju ovakvih slučajeva.

Prekratka GP uzrokuje pritisak na sluznicu dušnika i jednjaka što dovodi do jake fibromatozne reakcije i granulacija koje mogu potpuno prerasti preko rubova pa čak i cijele GP (slika 1.3.4.3).



Slika 1.3.4.3. Granulacije sluznice dušnika. Izvor: Đanić D.

I kanila može izazvati slične reakcije na sluznici traheje te je preporučljivo što ranije ukloniti kanilu iz traheostome, a ako nije moguće, učiniti i plastiku traheostome. Ovu komplikaciju moguće je riješiti postavljanjem duže GP obično za jedan broj a velike granulacije sluznice traheje moguće je ukloniti elektrokoagulacijom ili CO<sub>2</sub> laserom (76). Hipertrofiju sluznice jednjaka teško je uočiti, no bolesnici se često žale na otežanu produkciju glasa i sukrvicu na vrhu četkice nakon čišćenja. Hipertrofičnu sluznicu moguće je vidjeti pomoću tankog fiberendoskopa pregledom kroz GP ili nakon vađenja GP kako protrudira kroz TEF (slika 1.3.4.4.).



Slika 1.3.4.4. Hipertrofija sluznice jednjaka vidljiva fleksibilnim ezofagogastroskopom i prolaps hipertrofične sluznice jednjaka kroz TEF i traheostomu. Izvor: Đanić D.

Ovaj problem također se rješava postavljanjem duže GP, obično za dva broja, a često je potrebno učiniti prebačaj kojim se GP u cijelosti gurne u lumen jednjaka te se retrogradno pomoću peana izvuče trahealni dio kako bi prirubnica od strane jednjaka prekrila okolno tkivo.

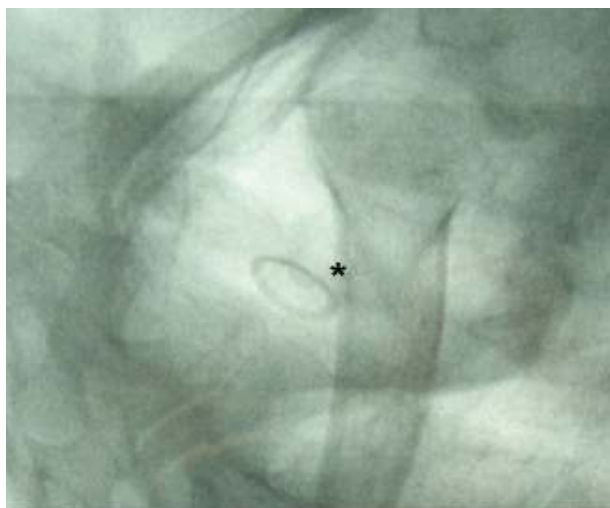
Neprepoznate na vrijeme sve prethodno navedene komplikacije mogu dovesti do djelomične ili potpune ekstruzije GP iz TEF (slika 1.3.4.5.).



Slika 1.3.4.5. Djelomična ekstruzija GP iz TEF. Izvor: Đanić D.

Ispadanje GP u traheju i bronhe jest hitno stanje. Aspiracija GP može se dogoditi i kod GP koje bolesnici sami mijenjaju ili kod prerastanja sluznice jednjaka. Obično se dogodi prilikom jakog kašlja te GP najčešće završi u desnom glavnom bronhu ili na karini (slika 1.3.4.6.).





Slika 1.3.4.6. RTG snimka – ezofagealni rub aspirirane govorne proteze. Izvor: <http://www.voiceprotheses.com/troubleshooting/leakageaspiration/dislocation-of-voice-prosthesis>.

Bolesnik obično ima nadražajni kašalj i srednje tešku dispneju. GP potrebno je izvaditi hvataljkama pomoću rigidnog ili fleksibilnog bronhoskopa uz topičku anesteziju. U slučaju ekstruzije GP u jednjak doći će do spontane pasaže i izbacivanja stolicom, pri čemu je najvažnije privremeno zatvoriti TEF kako bi se spriječila aspiracija sadržaja jednjaka. Najjednostavnije je TEF zatvoriti dilatatorom (slika 1.3.4.7.)



Slika 1.3.4.7. Dilatator postavljen u TEF. Izvor: Đanić D.

### Komplikacije vezane uz govornu protezu

U komplikacije vezane uz samu GP ubrajamo formiranje biofilma i curenje kroz GP (slika 1.3.4.8. i slika 1.3.4.9.)



Slika 1.3.4.8. Biofilm na GP nakon 2 i 12 mjeseci korištenja. Izvor: Đanić D.



Slika 1.3.4.9. Curenje kroz GP. Izvor: Đanić D.

Analizom biofilma GP nađena je mješovita flora: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus epidermalis*, a najzastupljenije su kolonije kandidate. Biofilm uzrokuje oštećenja GP i dovodi do upalne reakcije okolnog tkiva. Curenje kroz GP najčešće je

uzrokovano depozitima kandidate na rubovima valvule koji sprečavaju uredno zatvaranje valvule. Upotreba antibiotika i antimikotika u rješavanju biofilma je neučinkovita (88, 89). Korištenje mliječnih proizvoda s probioticima, posebice kefira, dokazano je učinkovito (90). Do curenja kroz GP može doći i pri otvaranju valvule zbog negativnog intratorakalnog tlaka tijekom disanja. Razvojem posebnih govornih proteza s valvulom od materijala sličnih teflonu koji su otporni na kandidu, te GP sa srebrnim oksidom i ugradnjom magneta koji drže valvulu zatvorenom pri negativnom tlaku vijek trajanja GP značajno se produžio (91, 92).

### **1.3.5. Čimbenici rizika za razvoj komplikacija govorne proteze**

U dosadašnjoj literaturi nekoliko je istraživanja analiziralo rizične čimbenike koji utječu na razvoj komplikacija govorne proteze. Pri tome je većina autora proučavala čimbenike koji dovode do razvoja atrofičnih fistula i fistula s povećanim dijametrom. Neki autori tvrde da promjene tkiva nakon radioterapije, recidiv tumora, pothranjenost, pušenje, disfunkcija štitnjače i šećerna bolest pridonose razvoju povećane fistule (54, 93, 94). Iako kliničko iskustvo podržava ove rezultate, epidemiološki dokazi su oskudni (95). Drugi su autori objavili da bi dijametar GP i način promjene mogao predstavljati potencijalne rizične čimbenike za razvoj povećane fistule (93, 96, 97). No Hutcheson i suradnici u svom preglednom sistematskom članku i metaanalizi nisu našli dovoljno dokaza za ovakav zaključak (95). Nedavno objavljena multivarijatna analiza prijeoperativnih i poslijeoperativnih faktora rizika za razvoj povećane fistule potvrdila je da se povećana TEF pojavljuje samo u bolesnika u kojih je provedena radioterapija, te da veći broj zahvaćenih limfnih čvorova (N2 i N3) prijeoperativno, poslijeoperativni razvoj strikture i poslijeoperativni razvoj recidiva i metastaza povećavaju rizik za povećanje dijametra TEF (98). Isti autori dokazali su da su proširena resekcija i prijeoperativna pothranjenost značajno povezane s povećanom TEF, dok dijametar GP i način mijenjanja ne utječu značajno na ovu komplikaciju (97). Drugo multivarijatno istraživanje dokazalo je da radioterapija značajno utječe na skraćanje vremena trajanja GP (99). Nekolicina istraživanja u posljednjih pet godina otvorila je problem utjecaja ekstraesofagealnog refluksa (EER) na razvoj komplikacija, prvenstveno atrofije traheoesofagealnog zida i povećanja dijametra fistule, te na nastanak granulacija sluznice dušnika, otežanu proizvodnju glasa i skraćanje vremena trajanja GP (99-102).

#### 1.4. Ekstraefozofagealni refluks

Ekstraefozofagealni refluks (EER) je povrat želučanog sadržaja iz želuca, kroz jednjak u gornji dio aerodigestivnog trakta, uključujući hipofarinks, grkljan, dušnik i bronhe, orofarinks, nazofarinks, usnu šupljinu, nosne šupljine, sinuse i srednje uho. Iako su se simptomi i patološke promjene sluznice grkljana više od 30 godina povezivali s gastroefozofagealnim refluksom (GER), tek je 2005. na Svjetskom kongresu gastroenterologa u Montrealu gastroefozofagealna refluksna bolest (GERB) definirana kao bolest koja nastaje kada povrat želučanog sadržaja izaziva smetnje i/ili komplikacije, pri čemu se razlikuje efozofagealni sindrom i ekstraefozofagealni sindrom (103). Ekstraefozofagealni sindrom obuhvaća refluksni kašalj, refluksni laringitis, refluksnu astmu, dentalnu eroziju te je predloženo da se uvrste i sinuitis, faringitis, idiopatska plućna fibroza i rekurentne upale srednjeg uha (103). Dosada je najviše istraživani laringofaringealni refluks (LPR), kojim se označava EER u užem smislu jer predstavlja povrat želučanog sadržaja iz jednjaka u hipofarinks i grkljan (104), a neki autori ga nazivaju i posteriornim laringitisom, refluksnim laringitisom, gastrofaringealnim refluksom i supraefozofagealnim refluksom. Istraživanja provedena tijekom posljednjeg desetljeća dokazala su da su LPR i GERB dvije različite bolesti uzrokovane GER. GER se redovito pojavljuje u zdravih osoba bez znakova ili simptoma bolesti i čak do 50 povrata ( $\text{pH}<4$ ) dnevno u jednjak smatra se fiziološkom pojavom (105). Međutim, veći broj povrata želučanog sadržaja može izazvati oštećenja i upalu sluznice jednjaka koje nazivamo GERB, a očituju se žgaravicom, erozijama i ulceracijama sluznice, suženjima jednjaka, metaplazijom i nastankom karcinoma jednjaka. GER se može duž cijelog jednjaka vratiti do hipofarinksa, grkljana i ostalih dijelova aerodigestivnog puta uzrokujući različite simptome i stanja (tablica 1.4.1.) (106).

Tablica 1.4.1. Simptomi i bolesti vezane za EER

Organ	Simptomi	Bolest
Grkljan	Promuklost	Kronični laringitis
	Zamor glasa	Subglotična stenoza
	Pucanje glasa	Kracinom grkljana
	Hiperkinetička disfonija	Paroksizmalni laringospazmi
		Laringofaringealni refluks
		Kontaktna ulceracija
		Granulom
		Rekurentna leukoplakija
		Čvorići na glasnicama
		Laringomalacija
		Fiksacija aritenoida
		Renkeov edem
		Pahidermija
Orofarinks i hipofarinks	„Globus histericus”	Karcinom ždrijela
	Disfagija	Opstruktivna apneja u spavanju
	Kronična grlobolja	
	Prekomjerno pročišćavanje grla	
	Prekomjerna skrecija sluzi/sline	
Pluća i traheobronhalno stablo	Zviždanje	Egzacerbacije astme
	Kronični kašalj	
Srednje uho		Sekretorne upale srednjeg uha
Usna šupljina	Halitoza	Dentalne erozije
Paranasalne šupljine		Kronični rinosinuitis
Višcorganska bolest		Sindrom nagle smrti novorođenčeta

Neki autori smatraju da ne postoji fiziološki EER te da je jedan ekstraefagealni refluksni događaj dovoljan da uzrokuje LPR (107, 108). Međutim, sve je više dokaza da postoji fiziološki refluks i do 20% asimptomatskih zdravih ispitanika ima EER (109). Do danas nije utvrđeno što je točno fiziološki EER i kako ga dijagnosticirati.

### **1.4.1. Anatomija, fiziologija i patofiziologija ekstraesofagealnog refluksa**

U organizmu postoje četiri anatomske i fiziološke barijere koje štite gornji dio aerodigestivnog puta od želučanog sadržaja: gastroezofagealni spoj, motorna funkcija jednjaka, neutralizacija kiseline i gornji sfinkter jednjaka (107). Prve tri zajedničke su obrani od GERB i EER.

#### **Gastroezofagealni spoj**

Prva je prepreka gastroezofagealni spoj koji čine donji sfinkter jednjaka i krura ošita s frenoesofagealnim ligamentom. Postoje tri teorije koje objašnjavaju povrat želučanog sadržaja kroz gastroezofagealni spoj: kratkotrajne relaksacije donjeg sfinktera jednjaka, hipertenzija donjeg sfinktera jednjaka i anatomske poremećaji vezani uz hijatalnu herniju. Kratkotrajne relaksacije donjeg sfinktera jednjaka predstavljaju visceralni refleksi odgovor na distenziju želuca, a nisu vezane uz gutanje ili peristaltiku (110). Distenzija želuca stimulira proksimalne receptore za tlak i rastezanje te preko aferentnih i eferentnih vagalnih niti uzrokuje kratkotrajne relaksacije donjeg sfinktera jednjaka (110, 111). Frekvencija ovih relaksacija ne razlikuje se značajno u bolesnika sa GERB od onih u zdravih osoba, ali je povećan broj kratkotrajnih relaksacija praćenih refluksom (112). Osnovni tonus donjeg sfinktera jednjaka u mirovanju je 15-30 mm Hg iznad tlaka u želucu te sprečava GER. U manjem broja bolesnika s težim oblicima GERB primijećena je trajna hipotonija donjeg sfinktera jednjaka, pri čemu je razlika tlakova bila manja od 6 mm Hg (113). Iako nije istražena uloga kratkotrajnih relaksacija i tonusa donjeg sfinktera jednjaka kod EER, dokazano je da hipotonija donjeg sfinktera jednjaka dovodi do refluksa u proksimalni segment jednjaka (114). Oba mehanizma pogoršana su kod hijatalne hernije, a na njihovo pogoršanje utječu masna hrana, alkohol, kofein i pušenje (115). Također, na sniženje tonusa utječu i endogeni hormoni (kolecitokin, progesteron tijekom trudnoće) te neki lijekovi (nitrati, blokatori kalcijevih kanala) (115).

#### **Motorna funkcija jednjaka**

Pod motornom funkcijom jednjaka razumijevamo primarnu peristaltiku izazvanu podraživanjem sluznice ždrijela tijekom gutanja i sekundarnu peristaltiku izazvanu direktnim podražajem sluznice jednjaka. Manometrijska mjerenja pokazala su abnormalnu primarnu peristaltiku u 75% bolesnika s LPR, pri čemu su najčešći poremećaji bili neučinkovita

pokretljivost jednjaka, povremene slabe kontrakcije, kontrakcije koje se nisu prenosile cijelom dužinom jednjaka i nepotpuna relaksacija donjeg sfinktera jednjaka (116).

### **Neutralizacija kiseline**

Autori koji su istraživali klirens kiseline dokazali su da je vrijeme potrebno da se pH jednjaka neutralizira nakon refluksa značajno duže u bolesnika s LPR nego u kontrolnoj skupini, ali je značajno kraće nego u bolesnika s GERB. Iako se to vrijeme odnosi i na pokretljivost jednjaka i neutralizaciju slinom, autori su pretpostavili da je neutralizacija slinom ujednačena među svim ispitanicima (109). Međutim, neka istraživanja pokazala su da su količina sline i pH sline značajno niži u bolesnika s LPR nego u zdravih kontrolnih ispitanika te da je to prvenstveno posljedica a ne uzrok refluksa, jer su se oba parametra normalizirala nakon primjene antirefluksne terapije (117, 118). Slina također sadrži i epidermalni faktor rasta koji pomaže obnovi epitela ždrijela i jednjaka, a koji je u slini bolesnika s LPR značajno snižen (119). Osim što slina ispire i neutralizira kiselinu, i sluznica jednjaka ima sposobnost neutralizacije kiseline sekrecijom bikarbonatnih iona. Bikarbonatni ioni nastaju prilikom reakcije hidratacije koju katalizira ugljična anhidraza I-IV. Dokazano je da je ekspresija izoenzima ugljične anhidraze III kompenzatorno povišena u sluznici jednjaka u bolesnika s GERB (120).

### **Gornji sfinkter jednjaka**

Četvrta antirefluksna prepreka jest gornji sfinkter jednjaka. Za razliku od prve tri koje utječu i na nastanak GERB, disfunkcija gornjeg sfinktera jednjaka ključna je u nastanku EER. Gornji sfinkter jednjaka područje je visokog tlaka faringozofagealnog prijelaza u čijoj toničkoj kontrakciji sudjeluju kaudalne mišićne niti donjeg konstriktora ždrijela, krikofaringealni mišić i kružne kranijalne mišićne niti cervikalnog jednjaka (121). Krikofaringealni mišić je bilateralni mišić s bilateralnom inervacijom (122). Motorički ga prvenstveno oživčuje povratni laringealni živac te faringealni pleksus kojeg čine faringealni ogranci vagusa, gornjeg laringealnog živca i glosofaringeusa, a osjetno glosofaringeus i gornji laringealni živac (123, 124). Iako većina istraživača smatra krikofaringealni mišić glavnim u funkciji gornjeg sfinktera jednjaka, svaki od prethodno navedenih mišića ima značajnu ulogu u različitim fiziološkim stanjima. Osnovna je funkcija gornjeg sfinktera jednjaka sprečavanje ulaska zraka u jednjak prilikom udisaja i povratak sadržaja iz jednjaka u hipofarinks nakon gutanja, što se postiže osnovnim tonusom u mirovanju (125). Manometrijska mjerenja pokazala su radijalnu asimetriju tlaka u gornjem sfinkteru jednjaka, a tlak u mirovanju u

zdravih osoba vrlo je varijabilan i kreće se od 35 do 200 mm Hg (126, 127). Nakon tonusa u mirovanju jedna od najvažnijih funkcija je relaksacija prilikom gutanja iako je otvaranje gornjeg sfinktera jednjaka prvenstveno posljedica kontrakcije suprahoidnih mišića (128). Također potpuna relaksacija gornjeg sfinktera prisutna je prilikom podrigivanja i povraćanja iako neposredno prije potpune relaksacije dolazi do kontrakcije svih triju mišića gornjeg sfinktera jednjaka (128, 129). Značajno niži tlak dokazan je u djece i starijih, dok je u snu prisutan vrlo nizak ili nemjerljiv tlak (130, 131). U tablici 1.4.1.1. prikazana su stanja koja dovode do promjene tlaka gornjeg sfinktera jednjaka u različitim fiziološkim ili eksperimentalno izazvanim stanjima (119).

Tablica 1.4.1.1. Promjene tlaka u gornjem sfinkteru jednjaka u različitim fiziološkim ili eksperimentalno izazvanim stanjima

↓ tlaka u gornjem sfinkteru jednjaka	↑ tlaka u gornjem sfinkteru jednjaka
Gutanje	Udisaj
Povraćanje	Stres
Podrigivanje	Distenzija jednjaka tekućinom ili krutim tvarima
Izdisaj	Podražaj sluznice jednjaka kiselinom
Spavanje	Sekundarna peristaltika
Kod novorođenčeta	Podražaj ždrijela zrakom ili vodom
Kod starijih	
Distenzija jednjaka balonom ili zrakom	

Disfunkcija gornjeg sfinktera jednjaka opisana je kod krikofaringealne ahalazije, Zenkerovog divertikla, „globus hystericus“, EER, krikofaringealne miopatije te nekih kroničnih neuroloških poremećaja poput Parkinsonove bolesti, bolesti motornog neurona i multiple skleroze (121). Patofiziološki mehanizam disfunkcije gornjeg sfinktera jednjaka kod EER nije još u potpunosti poznat. Poznato je da smanjeni osnovni tonus gornjeg sfinktera jednjaka neće dovesti do EER, jer do regurgitacije ne dolazi tijekom sna kad je osnovni tonus izrazito snižen, nego se EER pojavljuje u budnom stanju i u uspravnom položaju (130). Prosječni tlak gornjeg sfinktera jednjaka jednak je u zdravih ispitanika i u bolesnika s LPR (132), a elektrofiziološka mjerenja krikofaringealnog mišića potvrdila su da je osnovni tonus mišića u mirovanju i tonus prilikom gutanja jednak u zdravih ispitanika i u bolesnika s LPR (133). No, primijećeno je da je u bolesnika s LPR snižen prag za relaksaciju gornjeg sfinktera jednjaka nakon umjetno izazvane distenzije jednjaka zrakom u odnosu na zdrave kontrolne ispitanike te bi ovaj preosjetljivi refleksni odgovor poput podrigivanja mogao pridonijeti



nastanku EER prilikom abruptnog spontanog GER (134). Ovu teoriju podupire i činjenica da kod EER osim povrata tekućeg sadržaja dolazi i do povrata aerosola (135, 136). Najnovija istraživanja pokazala su da je aktivna relaksacija gornjeg sfinktera jednjaka neophodna za EER, a kratkotrajne relaksacije gornjeg sfinktera jednjaka, nevezane uz gutanje, osnovni su mehanizam nastanka EER (137). Također je dokazano da je refleksni luk u kojem podražaj sluznice ždrijela i grkljana uzrokuje povišenje tonusa i produženu kontrakciju gornjeg sfinktera jednjaka u bolesnika s oštećenjem sluznice hipofarinksa i grkljana oslabljen. Za izazivanje istog refleksnog odgovora potreban je jači podražaj, odnosno veća količina regurgitiranog sadržaja koja pak dovodi do daljnjih oštećenja i slabljenja ovog refleksa te se tako stvara začarani krug (138).

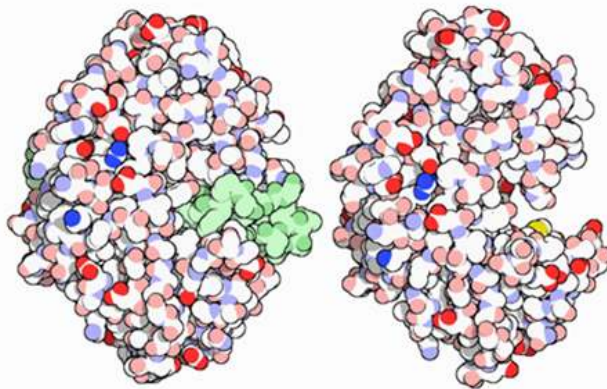
GERB i simptomi ekstraesofagealnog sindroma razvijaju se djelovanjem želučane kiseline, pepsina, žučnih kiselina i enzima gušterače.

### **Želučana kiselina**

Dosad najproučavanija komponenta želučanog sadržaja je želučana kiselina. To je klorovodična kiselina čiji utjecaj na sluznicu jednjaka i gornjeg dijela aerodigestivnog puta nije do kraja istražen. U početku se vjerovalo da su sva oštećenja izazvana kiselinom što je snažno podupirao dobar učinak terapije inhibitorima protonske pumpe (IPP). Zatim su neke studije pokazale da sama želučana kiselina s pH vrijednosti 1.3 i više, kakva će se naći u lumenu jednjaka, ne uzrokuje ezofagitis nego stvara kiseli medij pogodan za djelovanje enzima proteaza, prvenstveno pepsina, koji dovode do oštećenja sluznice i nastanka „peptičke ozljede“ (139). Međutim, 2010. Farré i suradnici su objavili istraživanje u kojemu su zdravim dobrovoljcima ispirali sluznicu distalnog segmenta jednjaka s neutralnom otopinom, slabom kiselinom i jakom kiselinom te dokazali da slaba kiselina (pH 5.5) uzrokuje jednake promjene kao i jaka kiselina (pH 2), a oštećenja su vidljiva kao dilatacija intercelularnog prostora koja se mogu dijagnosticirati elektronskim mikroskopom (140). Pritom uočena oštećenja nisu nastala samo na mjestu direktnog kontakta nego i na proksimalnijim dijelovima jednjaka (140). Druga istraživanja dokazala su da djelovanje kiseline na sluznicu distalnog jednjaka stimulira vagalni ezofago-bronhalni refleks, pri čemu se povećava parasimpatička aktivnost koja dovodi do bronhokonstrukcije i pojave simptoma sličnih astmi (141, 142). U majmuna je dokazana prisutnost živčanih završetaka u intercelularnom prostoru sluznice ispod tek tri sloja stanica koja su izrazito osjetljiva na male količine kiseline, pH 5.2 do 6.9 i čija kronična iritacija dovodi do preosjetljivosti prethodno navedenog refleksa (143).

## Pepsin

Glavne stanice želuca te mukozne stanice pilorusa i kardije proizvode i izlučuju pepsinogen, inaktivni proenzim pepsina. Pepsin je aspartna proteaza, velika bilobarna molekula u čijoj se konkavnost nalazi aktivno mjesto. Kod pepsinogena aktivno mjesto pokriveno je s 44 aminokiseline koje se u kiselom mediju ( $\text{pH} < 6$ ) autokatalizom gube te pepsinogen prelazi u aktivni pepsin (slika 1.4.1.1.), koji zatim nastavlja aktivaciju ostalih pepsinogena čak i u odsutnosti kiseline.



Slika 1.4.1.1. Inaktivni pepsinogen i aktivni pepsin. Izvor: <http://www.rcsb.org/pdb>.

Danas je poznato sedam izoenzima pepsinogena koji se izlučuju u različitim dijelovima želuca te njihovi aktivni oblici imaju optimalan učinak pri različitim pH vrijednostima - od 1,9 do 3,6 (144). Također je dokazano da je smjesa izoenzima značajno stabilnija te je dokazana peptička aktivnost želučanog soka i do pH 7.8 (145). U nedavno objavljenoj studiji koja je istraživala aktivnost i stabilnost izoenzima 3b, koji čini 70% ukupne količine pepsina, kinetičkim testom mjerena je hidroliza supstrata specifičnog za pepsin (146). Autori su dokazali da je aktivnost ljudskog 3b pepsina najveća pri pH 2 i opada do pH 6.5. Nakon toga postaje reverzibilno inaktivan i ponovnim smanjenjem pH na 3 zadržava 70% do 80% svoje prvotne aktivnosti, čak i ako je prethodno bio inkubiran na pH 7, 5 min ili 24 sata, pri temperaturi od 37°C. Pepsin je ireverzibilno inaktiviran tek pri pH 8 (146). Pepsin svojom proteolitičkom aktivnošću uništava veze među stanicama, dezmosome i proteine čvrstog spoja koji sudjeluju u adheziji stanica, staničnoj polarnosti i permeabilnosti te olakšavaju međustaničnu signalizaciju kod diferencijacije i proliferacije stanica. Oštećenje međustaničnih veza dovodi do dilatacije intercelularnih prostora i povećava se paracelularna permeabilnost. Ako bi pepsin zatim prošao kroz intercelularni prostor, moguća meta proteolize bio bi kolagen, posebno tip IV za koji je dokazano da se hidrolizira pepsinom na

nezavijenim krajevima molekule i oslobađa monomere (139, 147). Bazalna membrana građena je od kolagena tipa IV i njegovom razgradnjom moguća je disrupcija bazalne membrane što je nađeno kod erozivnog ezofagitisa (139). Proteolitičkom aktivnosti pepsina u kiselom mediju teško se mogu objasniti oštećenja sluznice gornjeg aerodigestivnog puta, posebice grkljana jer je dokazano da je EER dobrim dijelom slabo kiseli ili čak nekiseli. Nedavno objavljeni radovi skupine istraživača pod vodstvom Nikkija Johnstona, koji su istraživali učinak humanog pepsina 3b na *ex vivo* sustavima i staničnim kulturama pokazali su tri važna otkrića. Prvo, u bolesnika s LPR nađen je pepsin priljubljen uz stanice grkljana, ali ne i u zdravih kontrolnih ispitanika (148). Također, u bolesnika s LPR nije nađen pepsin priljubljen uz stanice jednjaka, što bi bilo očekivano jer ERR prvo mora proći kroz jednjak (158). Kod slabo kiselog refluksa ili kod normalnog pH grkljana, oko 6.8, inaktivni pepsin biva endocitozom preko nespecifičnog receptora unesen u stanicu u Golgijev aparat gdje je pH oko 5.5 pri čemu dolazi do reaktivacije pepsina (149). Reaktivirani pepsin zatim dovodi do edema stanice te strukturnih oštećenja mitohondrija i Golgijevog aparata koji su vidljivi elektronskim mikroskopom već nakon jednog sata i traju do 24 sata (149). Rana oštećenja praćena su povećanom ekspresijom sedam gena uključenih u stanični stres i toksičnost, uključujući i proteine toplinskog šoka, a u kasnoj fazi smanjena je ekspresija 18 gena uključenih u stres (149). U bolesnika s LPR u stanicama grkljana nađena je deplecija enzima ugljične anhidraze III koja je značajna u neutralizaciji kiseline te deplecija protektivnih proteina: mucina 2, 3, 5A, 5B, Sep70, sep53 i E-kadherina koji je ključan u održavanju adhezije među stanicama (150-2). Također, dokazano je da intracelularni pepsin mijenja ekspresiju proinflamatornih citokina CCL20, CCL26, IL1F10, IL1A, IL5, BCL6, CCR6, CXCL 14 te 27 gena uključenih u karcinogenezu (149).

### **Žučne kiseline**

Žučne kiseline djeluju pri višim pH vrijednostima i mogle bi imati značajnu ulogu u nastanku oštećenja sluznice kod ERR u odnosu na GERB. Žučne kiseline mogu uzrokovati oštećenja sluznice na dva načina. Žučne soli imaju svojstva deterdženta te mogu destabilizirati membranu i povećati propusnost, narušiti homeostazu stanice i dovesti do njezine smrti (153). Žučne kiseline također mogu uzrokovati citotoksični efekt staničnim upijanjem soli koja ovisi o ionizaciji soli (154). U nizu *ex vivo/in vitro* istraživanja dokazano je da žučne kiseline potiču proizvodnju upalnih medijatora poput IL-8 i COX-2 u pločastim i Barretovim epitelnim stanicama jednjaka i uzrokuju oksidacijski stres te oštećenje DNA i apoptozu (155). Također, potiču pločaste i Barretove stanice da promijene ekspresiju gena

koja više odgovara intestinalnom tipu (156). Malobrojna istraživanja o utjecaju žučnih kiselina kod EER pokazala su da je značajan utjecaj žučnih kiselina i u odsutnosti želučane kiseline i pepsina. Značajna pozitivna korelacija incidencije upalnih i neoplastičnih promjena grkljana dokazana je u bolesnika nakon Billroth II operativnog zahvata ili totalne gastrektomije, a težina promjene sluznice grkljana pozitivno korelira s vremenom koje je prošlo od operativnog zahvata (157). Također je dokazano da žučne kiseline u stanicama ždrijela potiču ekspresiju COX-2, što navodi na značajan utjecaj EER u tumorogenezi ždrijela (158). Aspirirane žučne kiseline izazivaju fibrozu dišnih puteva preko povišene proizvodnje TGF-beta1 i proliferacije fibroblasta (159).

### **Tripsin**

Od enzima gušterače najviše je proučavan tripsin iako su istraživanja o njegovu utjecaju na sluznicu gornjeg dijela aerodigestivnog puta oskudna i prvenstveno je proučavan utjecaj na sluznicu jednjaka. Dokazano je na animalnom modelu da će kamostat mesilat inhibitor tripsina dovesti do značajnog poboljšanja ezofagitisa izazvanog duodenogastroezofagealnim refluksom (160). Također je utvrđeno da tripsin na kulturi stanica pločastog epitela jednjaka uzrokuje oštećenja epitelne barijere aktivacijom IL-8 preko proteaza-aktiviranog receptora 2 (PAR-2) u bazalnom i parabazalnom sloju (161). Slična aktivacija PAR-2 imunohistokemijskim metodama nađena je i u bolesnika s GERB.

#### **1.4.2. Dijagnostički postupci otkrivanja ekstraefagealnog refluksa**

Kao što je vidljivo iz tablice 1.4.1., EER pridonosi razvoju cijelog niza simptoma, kliničkih znakova i bolesti. Najčešće su promjene na sluznici grkljana, no ne postoje oštećenja specifična za EER. Prilikom dijagnosticiranja EER koristi se cijeli niz dijagnostičkih postupaka, te iako se potvrda dijagnoze temeljila na mjerenjima vrijednosti pH jednjaka i ždrijela i otpora unutar jednjaka, danas niti jedan postupak nije zlatni standard.

#### **Anamneza i klinički pregled**

Detaljni podatci vezani uz simptome, komorbiditete, životne i prehrambene navike, te lijekove koje bolesnik redovito uzima iznimno su važni za postavljanje sumnje na EER. S obzirom na to da su najčešća oštećenja sluznice grkljana, do sada su najistraženiji simptomi LPR. Godine 2002. Belafsky i suradnici su predložili upitnik, *reflux symptom index* (RSI), radi lakšeg i točnijeg postavljanja dijagnoze LPR-a (tablica 1.4.2.1.) (162).

Tablica 1.4.2.1. Indeks refluksnih simptoma

U posljednjih mjesec dana kako su sljedeće tegobe utjecale na Vas? Zaokružite odgovarajući odgovor	0 - bez problema 5 - teški problem					
Promuklost ili problemi s glasom	0	1	2	3	4	5
Čišćenje grla	0	1	2	3	4	5
Pojačan sekret u grlu ili postnazalno slijevnje	0	1	2	3	4	5
Otežano gutanje tekućine, hrane ili tableta	0	1	2	3	4	5
Kašalj nakon jela ili nakon lijevanja	0	1	2	3	4	5
Otežano disanje ili napadaji gušenja	0	1	2	3	4	5
Dosadan i naporan kašalj	0	1	2	3	4	5
Osjećaj ljepljivosti ili „knedle” u grlu	0	1	2	3	4	5
Žgaravica, bol u prsima, otežana probava ili povrat kiseline	0	1	2	3	4	5
Ukupno						

Tablica 1.4.2.2. Zbroj kliničkih znakova refluksa

Klinički znak	
Suglotični edem	0- odsutan 2- prisutan
Ventrikularna obliteracija	2- parcijalna 4- kompletna
Eritem/ hiperemija	2- samo aritenoidi 4- difuzno
Edem glasnica	1- blag 2- umjeren 3- značajan 4- polipoidan
Difuzni edem grkljana	1- blag 2- umjeren 3- značajan 4- opstruktivni
Hipertrofija stražnje komisure	1- blaga 2- umjerena 3- značajana 4- opstruktivna
Granulom/ granulacijsko tkivo	0- odsutan 2- prisutan
Gust endolaringealni sekret	0- odsutan 2- prisutan

Upitnik sadržava osam najčešćih simptoma LPR koje bolesnik prema osobnoj procjeni ocjenjuje od 0 do 5, pri čemu 0 označava odsutnost simptoma, a 5 najveći intenzitet. Ako je zbroj svih simptoma veći od 13, postavlja se sumnja na LPR. Pri kliničkom pregledu potrebno je učiniti kompletan otorinolaringološki pregled, s posebnim osvrtom na indirektoskopski i fiberendoskopski pregled ždrijela i grkljana. Prethodno navedeni autori su 2001. godine predložili bodovnu skalu najučestalijih kliničkih znakova LPR, *reflux finding score* (RFS) (tablica 1.4.2.2.), pri čemu 0 označava uredan nalaz a zbroj bodova preko 7 upućuje na LPR (163).

### **24-satna višekanalna pH-metrija**

Tradicionalni testovi koji se koriste u dijagnosticiranju GERB poput ezofagografije barijem, ezofagogastroduodenoskopije, ezofagealne manometrije i Bernsteinovog testa ili ne daju nikakve podatke o stanju ždrijela i grkljana ili im je osjetljivost i specifičnost izrazito mala pa se točna dijagnoza EER ne može postaviti. 24-satna višekanalna pH-metrija dugo je smatrana najpouzdanijim testom i zlatnim standardom za dijagnosticiranje EER. Prvu višekanalnu pH-metriju izveo je Wiener 1987. postavivši jednu sondu u ždrijelo a drugu u jednjak (164). Danas se jedan kateter s dva senzora, odnosno kanala postavlja kroz nos, pri tome se donji senzor nalazi 5 cm iznad donjeg sfinktera jednjaka a gornji 0,5-2 cm iznad gornjeg sfinktera jednjaka. Kroz 24 sata mjere se i snimaju vrijednosti pH iznad gornjeg i donjeg sfinktera jednjaka na mali prijenosni uređaj koji bolesnik nosi oko struka dok obavlja svoje svakodnevne aktivnosti i vodi detaljan dnevnik o pojavi simptoma, položaju tijela (uspravan ili ležeći) te o unosu hrane i tekućine. Gornji i donji sfinkter jednjaka odrede se manometrijski, a gornji senzor se može postaviti i uz pomoć fleksibilnog endoskopa. U analizi snimljenih podataka koriste se uglavnom dobro utvrđeni parametri za GERB. Za kvalifikaciju EER događaja 2002. su Postma i suradnici predložili četiri kriterija: 1. pad pH ispod 4, 2. pad pH u ždrijelu neposredno nakon izlaganja distalnog jednjaka kiselinu, 3. bez pada pH tijekom gutanja i hranjenja, 4. nagli oštar pad pH proksimalnog senzora a ne postupan pad (165). Za određivanje težine EER analizirala se frekvencija refluksnih događaja, ukupno vrijeme izloženosti kiselinu, postotak vremena dok je  $\text{pH} < 4$ , a 2000. Vincent i suradnici predložili su da se parametar „površina ispod 4“, koji je još 1989. opisao Vandenplas za GER, koristi za kvantifikaciju EER (166, 167). Koristeći prethodno navedeni parametar kao „reflux area index“ (RAI) kod GER oni su na skupini 23 zdrava dobrovoljca utvrdili da je više od 50% ispitanika imalo barem jedan EER događaj s  $\text{pH} < 4$  kroz 24 sata, ali niti jedan EER događaj nije trajao duže od 5 minuta. Prosječni rezultat RAI bio je 1.6 (median

0.1) a rezultat od 6.3 predstavljao je 95 percentilu te su autori zaključili da je RAI rezultat veći od 6.3 abnormalan (168). No ovaj parametar još uvijek nije u širokoj primjeni i tek će buduća istraživanja na asimptomatskim i simptomatskim ispitanicima ocijeniti prethodna otkrića. S obzirom na sve veći broj istraživanja o slabokiselom ili nekiselom refluku, dokazano je da se smanjivanjem praga s pH4 na pH5 značajno povećava osjetljivost metode, a broj refluksnih događaja udvostručuje (168). Prvo istraživanje s pH5 proveli su 2006. Andersson i suradnici koji su na 32 zdrava dobrovoljca u 91% slučajeva našli EER pri pH5 i da je EER pet puta češći nego pri pH4. Zaključili su da su 34 refluksna događaja gornja granica normalnog ili 1,5% vremena mjerenja. Time su pokušali objasniti razilaženje u parametrima pH-metrije i simptomima i kliničkom nalazu LPR (169). Nakon njih nekoliko je studija pokušalo odrediti idealan prag pH za mjerenje EER koji dobro korelira sa simptomima i kliničkim znakovima no do danas nisu uspostavljeni jasni kriteriji. Najveći nedostaci istraživanja EER mjerenjem pH odnose se na: 1. postavljanje gornjeg senzora, pri čemu je dokazano da će rezultati mjerenja biti različiti ovisno o tome je li senzor postavljen ispod gornjeg sfinktera jednjaka u njemu ili do 2 centimetra iznad njega, 2. različite protokole testiranja i analize podataka te 3. na nedostatak uvriježene baze podataka za EER (166, 170, 171). U interpretaciji podataka važno je ukloniti artefakte pri čemu je izrazito bitna suradnja pacijenta i uredno vođenje dnevnika aktivnosti te uočavanje „pseudo-refluksa“, artefakta koji je posljedica sušenja senzora u hipofarinksu (170). Standardni pH monitoring ne može detektirati vaporizirani refluksat, ne mjeri volumen refluksata i ne daje nikakve informacije o nekiselom refluku (168, 172). Unatoč velikim ograničenjima, višekanalni 24-satni pH-monitoring donedavno se smatrao zlatnim standardom u dijagnostici EER.

Nedavno razvijena bežična pH-metrija provodi se pomoću Bravo sustava smještenog u kapsuli veličine 25 mm, koja se uspavanom bolesniku postavlja 5 cm iznad donjeg sfinktera jednjaka i vrši snimanja kroz 48 sati. Ovaj sustav pogodan je samo za mjerenje GER.

Također, 2009. objavljena je studija u kojoj su autori prvi put koristili posebni orofaringealni kateter (Dx-pH mjerni sustav) za mjerenje pH vrijednosti EER (135). Otada je objavljeno nekoliko istraživanja koja su potvrdila prednosti ovog katetera u odnosu na klasični pH-monitoring: mogućnost mjerenja aerosolnog refluksata te mogućnost samo ovlaživanja u svrhu sprečavanja pojave pseudorefluksa (135, 136, 173). Iako su razvijeni dijagnostički kriteriji i  $\text{pH} < 5.5$  se smatra abnormalnim (123), daljnja istraživanja su potrebna za potvrđivanje ovih parametara.

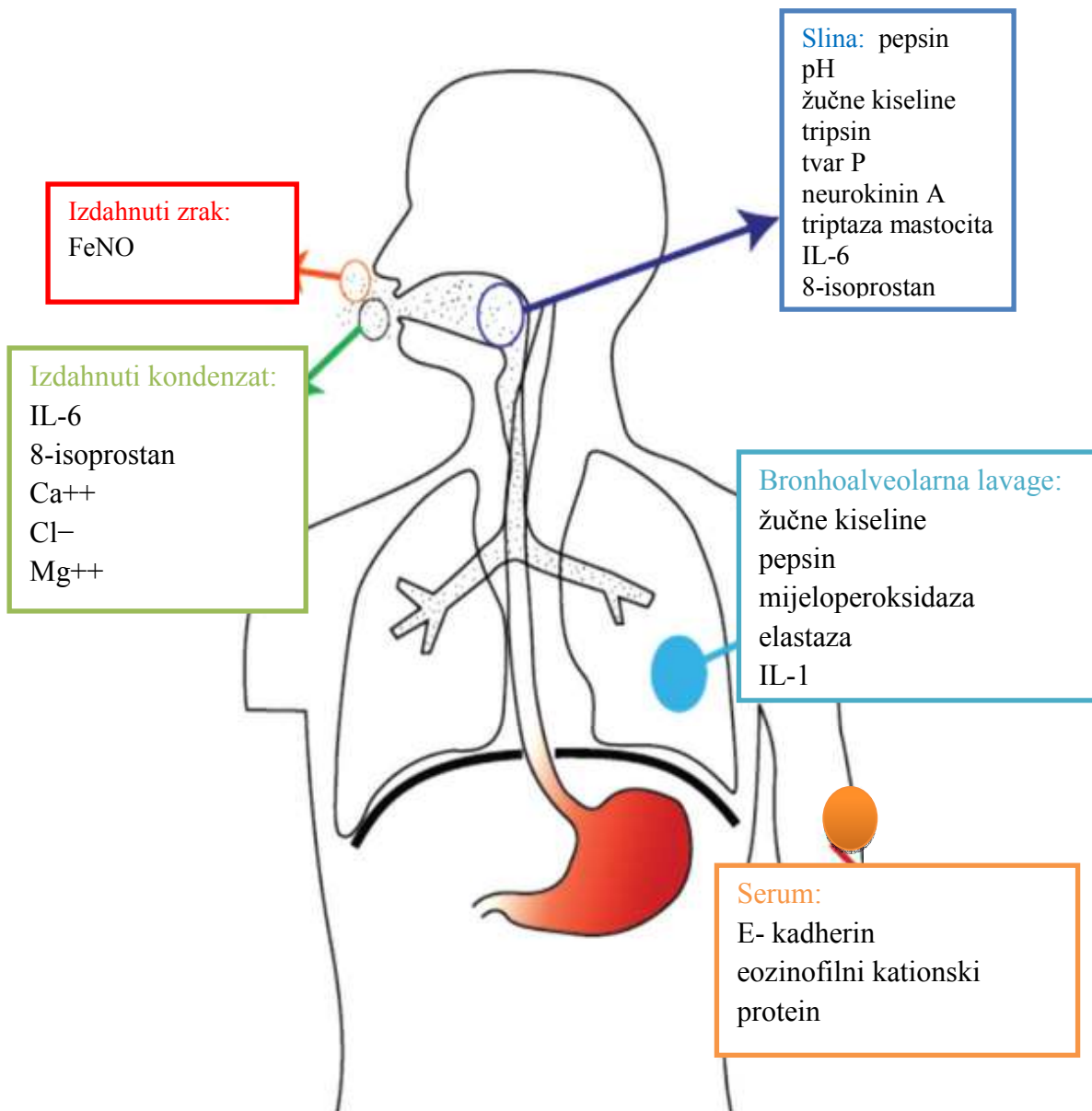
## **Višekanalno intraluminalno mjerenje impedancije**

Višekanalno intraluminalno mjerenje impedancije (MII) određuje smjer kretanja želučanog sadržaja i fizikalne karakteristike bolusa (tekućina, plin ili oboje) neovisno o pH (172). Godine 1991. Silny je prvi opisao MII (174). Mjerenje se provodi pomoću katetera s više senzora koji je postavljen u lumen jednjaka. Kad se par elektroda na svakom senzoru, odvojenih izolatorom - kateterom, postavi na sluznicu jednjaka koja sadrži ione, zatvara se električni krug. Vodljivost praznog jednjaka relativno je stalna i iznosi oko 2000 do 4000  $\Omega$ . Kad u mjereni segment dođe tekućina, povećaju se broj iona i vodljivost, a smanji se otpor. Impedancija će ostati niska sve dok je tekući sadržaj prisutan između dviju elektroda i početak će rasti kad se sadržaj odstrani peristaltikom jednjaka. Plin uzrokuje nagli porast impedancije, više od 5000  $\Omega$ , jer su obje elektrode obavijene plinom i nema iona koji bi zatvorili električni krug. Impedancija će se vratiti u osnovnu vrijednost kada elektrode budu ponovno u kontaktu sa sluznicom jednjaka. Kateter može sadržavati i pH senzore te je uz impedanciju moguće i mjerenje kiselosti refluksata. Tim se mjerenjem potvrdilo da su u bolesnika s LPR često prisutni slabo kiseli i nekiseli plinoviti refluksi (175). Iako je metoda superiorna klasičnoj pH-metriji, i dalje je skupa i nedostupna. Značajni nedostaci su nemogućnost mjerenja refluksa izvan jednjaka, zbog čega je metoda pogodnija za dijagnosticiranje GERB ili GER u proksimalnom segmentu jednjaka, te nemogućnost detekcije aerosola i nedostatak jasnih parametara za interpretaciju analiziranih podataka (168). Metoda je pogodnija za praćenje bolesnika, posebice na antirefluksnoj terapiji, nego za dijagnosticiranje.

## **Biomarkeri**

S obzirom na nespecifične simptome i kliničke znakove te povezanost EER s različitim bolestima, bila bi velika prednost imati dijagnostičku metodu kojom bi se razlikovali simptomi i znakovi uzrokovani EER u odnosu na druge uzroke. U tom smislu provedena su različita istraživanja u otkrivanju biomarkera u dostupnim tjelesnim tekućinama koji bi olakšali postavljanje dijagnoze EER (slika 1.4.2.1.).





Slika 1.4.2.1. Biomarkeri za koje je dokazana povezanost s EER (178)

U serumu bolesnika s GERB i EER proučavan je cijeli niz biomarkera no samo su sljedeći pokazali značajnu korelaciju. U bolesnika s GERB nađene su povišene razine fragmenta E-kadherina koje upućuju na oštećenje intercelularnih veza i povećanu permeabilnost sluznice (176). U bolesnika sa simptomima sličnim astmi i GERB nađena je razina eozinofilnog kationskog proteina kao i u zdravih osoba u odnosu na značajno povišene razine ovog proteina u bolesnika s pravom astmom, što bi potvrdilo hipotezu da je u bolesnika s pravom astmom uglavnom eozinofilna a u bolesnika s GER neutrofilna upala (177).

Nedavno objavljeni pregledni članak o biomarkerima GER kod respiratornih bolesti pokazao je da bolesnici s respiratornim tegobama i GER imaju različit biokemijski profil od bolesnika bez GER (178). Žučne kiseline dokazane su u induciranom iskašljaju kod bolesnika

s cističnom fibrozom i njihova razina pozitivno je korelirala s težinom bolesti (179). Povišene razine žučnih kiselina u bronhoalveolarnom ispirku loš su prognostički čimbenik za odbacivanje transplantata, za razvoj obliterirajućeg bronhiolitisa i za preživljenje bolesnika s transplantiranim plućima (180, 181). Upalni parametri u bolesnika s astmom različiti su ovisno o prisutnosti GER, a tahikinini povišeni u bolesnika s kroničnim kašljem (182, 183). Povišena razina tahikinina potvrđuje teoriju o utjecaju GER na respiratorne simptome preko ezofagobronhalnog refleksa. Nažalost za svaki pojedini biomarker mali je broj istraživanja i na malom uzorku te se jasni zaključci još uvijek ne mogu donijeti. Istraživanja pepsina u iskašljaju pokazala su oprečne rezultate, no dokazano je da je razina pepsina značajno viša u djece nego u odraslih te se rezultati istraživanja provedenih na dječjoj populaciji ne mogu primijeniti na odrasle i obrnuto (178). Također, uloga pepsina kao biomarkera u iskašljaju još je više dovedena u pitanje nedavno objavljenim podacima da se pepsinogen C proizvodi u plućima uglavnom u pneumocitima tip II (184). S obzirom na to da je tek nekolicina istraživanja određivala prisutnost pepsina, buduća istraživanja bi trebala mjeriti količinu pepsina u uzorcima i odrediti vrijednosti koje bi imale dijagnostičko značenje.

Nedavno objavljena istraživanja također su potvrdila prisutnost pepsina/pepsinogena i žučnih kiselina u sekretu srednjeg uha u bolesnika s ponavljajućim upalama srednjeg uha i EER. Međutim njihova uloga i značenje još nije istražena kao niti učinak antirefluksne terapije na ponavljajuće upale srednjeg uha (185).

GERB i kronični rinosinitis su bolesti koje su česte u općoj populaciji i stoga se često pojavljuju zajedno u istog bolesnika. Njihova koegzistencija ne može se sa sigurnošću pripisati istom patofiziološkom mehanizmu iako je nedavno eksperimentalno otkriven ezofagonazalni refleks kojim se povećava nosna rezistencija, oteklina sluznice i proizvodnja sluzi pri podraživanju sluznice jednjaka reflusatom (186). Istraživanja s nazofaringealnom i orofaringealnom sondom pokazala su da se povrat želučanog sadržaja u nazofarinks pojavljuje izrazito rijetko (187). Ozmen i suradnici su pokazali da je test peptičke aktivnosti u nosnom ispirku 100% osjetljiv i 92,5% specifičan u odnosu na klasičnu pH-metriju za faringealni refleks (188).

U bolesnika s LPR najznačajniji uzorak za analizu biomarkera je slina. U slini su nađene pozitivne vrijednosti pepsina, žučnih kiselina, ukupnog bilirubina. S obzirom na to da želučani sadržaj može biti manje ili više kiseli te da može i ne mora sadržavati žučne kiseline, bilirubin i enzime gušterače, najstabilnija komponenta je pepsin. Pepsin se u uzorku može

dokazivati enzim-imunotestom (ELISA), enzim testom te *Western blot* analizom. Niz istraživanja pokazalo je da je pepsin najosjetljiviji i najspecifičniji marker EER u odnosu na sve ostale komponente želučanog sadržaja (189). Godine 2011. razvijen je komercijalni test za analizu pepsina, Peptest<sup>TM</sup>. To je prva dijagnostička metoda za analizu nekog biomarkera EER koja ulazi u standardnu kliničku uporabu. Peptest je brz imunokromatografski test (*lateral flow*) koji je jednostavan za upotrebu, obavlja se ambulantno, neinvazivan je i rezultati se dobiju za nekoliko minuta. Donja granica detekcije je 16 ng/ml, a osjetljivost je nešto niža nego kod standardne ELISA metode, koja zahtijeva rad u laboratoriju, posebno educiranu osobu i više vremena za analizu. Saritas Yuksel i suradnici su u prospektivnom kontroliranom kohortnom istraživanju u 50 bolesnika s GERB i 51 kontrolnog ispitanika dokazali da *lateral flow* test ima 87% osjetljivost i specifičnost, te mu je pozitivna prediktivna vrijednost 81%, a negativna 78% u odnosu na pH-metriju ili ezofagogastroskopiju (190). U većini dosadašnjih istraživanja analizirana je prisutnost pepsina u uzorku. Međutim, tek će kvantifikacija pepsina u uzorku određivati težinu EER i najbolje korelirati s kliničkom slikom bolesti.

### **1.4.3. Terapija ekstraesofagealnog refluksa**

Kako ne postoji tipična klinička slika, kao niti zlatni standard u dijagnosticiranju EER, tako ne postoji ni idealna terapija u liječenju EER. Učinak terapije na EER najviše je ispitivan u bolesnika s LPR. Liječenje LPR podrazumijeva promjenu načina života i prehrambenih navika, a zatim medikamentnu te eventualno endoskopsku i kiruršku terapiju.

#### **Nutritivna terapija**

Medicinska nutritivna terapija podrazumijeva niz mjera u promjeni stila života i prehrambenih navika koje su povezane s pojavom simptoma i znakova bolesti. U to je uključeno: identificiranje namirnica koje izazivaju smetnje, zamjena tih namirnica sličnima koje ne potiču neželjene tegobe, raspored uzimanja obroka, izbjegavanje pušenja i konzumacije alkohola. Također se preporučuje smanjenje prekomjerne tjelesne težine i povećanje fizičke aktivnosti. Svaki prijedlog nutritivne terapije mora biti individualan, prilagođen uzrastu, zdravstvenom stanju i fiziološkom stanju bolesnika, njegovoj razini tjelesne aktivnosti, stupnju obrazovanja, vjerskim i kulturnim osobitostima, te mora sadržavati namirnice dostupne bolesniku. Većina preporuka za bolesnike s LPR temelji se na preporukama za bolesnike s GERB te značajno smanjuju GER, tako da uzrokuju manju

proizvodnju kiseline ili ne dovode do slabljenja tonusa donjeg sfinktera jednjaka (tablica 1.4.3.1.).

Tablica 1.4.3.1. Preporuke za bolesnike s LPR

Preporuke za bolesnike s laringofaringealnim refluksom
Obroke podijeliti u više količinski manjih obroka
Tri sata prije spavanja ne uzimati hranu
Ne lijegati netom nakon obroka
Smanjiti tjelesnu težinu
Izbjegavati kofein, kakao, čokoladu, ketchup, pepermint
Izbjegavati gazirana pića

J. Koufman, koja je prva uvela pojam laringofaringealnog refluksa, 2010. izdala je kuharicu s namirnicama koje smanjuju količinu kiseline, te je nedavno publicirala istraživanje u kojemu je u bolesnika s LPR, otpornima na terapiju inhibitorima protonske pumpe (IPP), nakon provedene terapije striktnom dijetom za smanjenje kiseline došlo do značajnog poboljšanja simptoma (191).

### Medikamentna terapija

Osnovna medikamentna terapija u liječenju EER je terapija s IPP. IPP smanjuje stvaranje kiseline u želucu ireverzibilnom inhibicijom protonske pumpe ( $H^+/K^+ - ATP$ ) te pojačava tonus gornjeg sfinktera jednjaka. Godine 1996. Američka akademija za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata predložila je za liječenje LPR IPP u dozi od 2 x 20 mg na dan ili u životno ugrožavajućim stanjima 3-4 x 20 mg u trajanju od najmanje 6 mjeseci. IPP su izrazito uspješni u liječenju GERB no njihova uspješnost značajno je manja kod EER, stoga je i vrijednost IPP u dijagnostici EER vrlo upitna. Nekoliko kliničkih istraživanja, sistemskih preglednih članaka i meta-analiza nisu potvrdile dobrobit terapije IPP u bolesnika s LPR (144, 192). U svih bolesnika s astmom IPP nisu imali značajnog učinka ali u podgrupi bolesnika s astmom i simptomima GER IPP terapija je bila učinkovita, dok u podgrupi bolesnika s astmom i pH-metrijski dokazanim GER, ali bez simptoma GER, nije bila učinkovita (144). U bolesnika s kroničnim kašljem u kojih je postojala sumnja na EER terapija IPP također nije bila učinkovita (193, 194).

Lijekovi s antipepsinskim učinkom, poput amilopektin sulfata i pepstatina, korišteni su u nekoliko kliničkih istraživanja u bolesnika s peptičkim vrijedom ali nisu bili učinkoviti (195-8).

Alginati su hidrokoloidei biljnog porijekla i čine strukturnu komponentu morske smeđe alge kojoj daju čvrstoću i elastičnost. Ovi hidrokoloidei su polimeri čija svojstva ovise o omjeru dvaju monomera od kojih se sastoje, manuronata i guluronata. Imaju mogućnost stvaranja gela, filma ili pak djeluju kao stabilizatori. Već su 40-ak godina prisutni na tržištu u liječenju dispeptičnih tegoba ali je tek nedavno uočen njihov odličan učinak vezivanja pepsina i žučnih kiselina u refluksatu. Godine 2009. objavljeni su rezultati *in vitro* istraživanja koji su dokazali da *Gaviscon Advance*, posebna alginatna formula koja sadrži natrijev alginat, uklanja oko 90% pepsina i žučnih kiselina u prvom refluksnom događaju te mu učinak postupno opada do 10 refluksa kada uklanja otprilike 50% pepsina i žučnih kiselina, najvjerojatnije preko selektivnog vezanja (199). Preporučena doza u bolesnika s dispepsijom je 4 x 10 ml na dan kroz 4-8 tjedana. Tek je nekoliko istraživanja objavljeno o utjecaju alginata na EER, i to uglavnom na LPR. Istraživači koji su usporedili bolesnike s LPR, sa i bez terapije *Gaviscon Advance* uz standardne preporuke o vokalnoj higijeni, dokazali su da je RSI bio značajno bolji nakon dva i nakon šest mjeseci u bolesnika na terapiji alginatima 4 x 10 ml, dok je RFS bio značajno bolji tek nakon šest mjeseci terapije (200). Druga skupina istraživača je bolesnike s LPR na terapiji IPP randomizirala u dvije skupine - sa i bez terapije *Gaviscon Advance*, te je dokazala da je u obje skupine nakon dva mjeseca došlo do jednakog poboljšanja. U skupini koja je primala terapiju alginatima poboljšanje se nastavilo za razliku od skupine koja je uzimala samo IPP terapiju te je prilikom kontrole nakon četiri i šest mjeseci razlika u RSI, RFS i indeksu kvalitete života vezane uz glas bila značajna (201).

### **Endoskopska i kirurška terapija**

Endoskopsko i kirurško liječenje EER odnosi se na liječenje GER, točnije poboljšanje funkcije donjeg sfinktera jednjaka. Tri endoskopske metode koje se najčešće koriste su endoskopska intraluminalna valvuloplastika, endoskopska radiofrekventna terapija i injekcija ili implantacija stranog materijala (202). Ciljana populacija za refluksnu endoskopsku terapiju su bolesnici ovisni o IPP, s malom, do 2 cm dugačkom klizajućom hijatalnom hernijom ili bez nje, i bez teškog ezofagitisa ili Barrettovog jednjaka (203). Sve te metode značajno su manje invazivne od kirurške terapije ali su podatci o njihovoj uspješnosti i mehanizmu djelovanja oskudni. Krajnji učinak svih endoskopskih metoda na tlak donjeg sfinktera jednjaka te 24-

satni intraluminalni pH profil jednjaka je skroman a potpuna normalizacija izloženosti kiselinu rijetka; ipak sve te tehnike smanjuju simptome GERB, poboljšavaju kvalitetu života, smanjuju izloženost jednjaka kiselinu i potrebu za anti-sekretornom terapijom (204). Kirurška antirefluksna terapija obuhvaća niz kirurških metoda i modifikacija kojima je svima u osnovi laparoskopska fundoplikacija. Fundoplikacija se postiže postavljanjem šavova koji pojačavaju tlak donjeg sfinktera jednjaka u mirovanju i nakon gutanja. U bolesnika koji imaju teža oštećenja sluznice jednjaka (ulceracije, stenozu, Barrettovu metaplaziju), nepotpunu rezoluciju simptoma ili ponovno javljanje simptoma uz medikamentnu terapiju, u bolesnika s dugotrajnim simptomima te mladih s perzistentnim simptomima trebalo bi uzeti u obzir kirurško liječenje (205). U 90%-95% bolesnika s GERB koji su podvrgnuti kirurškom liječenju došlo je do rezolucije žgaravice i regurgitacije, uz značajno poboljšanje kvalitete života (206,207). Učinkovitost na ekstraesofagealne simptome varira od 60% do 80% (207).

### **1.5. Ekstraesofagealni refluks u laringektomiranih bolesnika s govornom protezom**

U bolesnika s karcinomom glave i vrata dokazana je povećana učestalost EER te je EER jedan od faktora rizika za nastanak planocelularnog karcinoma ždrijela i grkljana (208, 209). Povećana incidencija ERR u ovoj skupini bolesnika posljedica je prvenstveno loših prehrambenih navika i ovisnosti o alkoholu i pušenju. U bolesnika s karcinomom glave i vrata kojima je učinjena totalna laringektomija također je očekivana veća učestalost EER zbog loših životnih navika koje često ostaju i nakon operativnog liječenja te zbog promijenjenih anatomskih odnosa gornjeg dijela aerodigestivnog puta i disfunkcije gornjeg sfinktera jednjaka (210). Istraživanja s digitalnom dinamičkom radiografijom pokazala su da svi bolesnici nakon totalne laringektomije imaju morfološke i funkcionalne promjene hipofarinksa i gornjeg dijela jednjaka (211, 212). Zabilježene su promjene poput parafaringealnog divertikla, submandibularne vrećice, fistule, suženja ili postoperativne stenozе, izraženog krikofaringealnog segmenta i EER (213). Također je uočen poremećaj motiliteta jednjaka, a u nekih i otežano pražnjenje jednjaka i nakupljanje u laringektomiranih bolesnika pokazala su da je funkcija gornjeg sfinktera jednjaka promijenjena, tlak u mirovanju kao i vršni tlak značajno su niži, a pojedina istraživanja otkrila su da je i peristaltika proksimalnog segmenta jednjaka oslabljena dok su distalni dio jednjaka i donji sfinkter jednjaka uredni (213, 214). Osim što totalna laringektomija dovodi do prethodno navedenih anatomskih i funkcionalnih promjena, kod velikog dijela bolesnika s GP provode se još neki zahvati koji dodatno slabe funkciju gornjeg sfinktera jednjaka poput miotomije krikofaringealnog mišića, neurektomije faringealnog spleta ili kemodenervacije faringealnog

spleta botulin toksinom A. S obzirom na to da se radi o bolesnicima s prijeoperativno uznapređovalim karcinomom, u poslijeoperativnom razdoblju velik broj pacijenata je podvrgnut radioterapiji. Kao posljedica radioterapije pojavljuje se oštećenje žlijezda slinovnica što rezultira značajno smanjenom proizvodnjom sline promijenjenog sastava (215). Također, dokazano je da radioterapija dovodi do stvaranja edema, a zatim fibroznog tkiva koje smanjuje motilitet jednjaka (216). Stoga će i neutralizacija kiseline u jednjaku biti narušena kod laringektomiranih bolesnika nakon provedene radioterapije. U bolesnika s formiranom TEF stvoren je direktan put između jednjaka i dušnika. Iako GP sprečava aspiraciju sline, hrane i povratnog želučanog sadržaja, sav sadržaj proksimalnog segmenta jednjaka utječe na GP i sluznicu jednjaka a pri curenju kroz ili oko GP i na sluznicu traheje, bronha te pluća. Na GP djeluje supraezofagealni refluks koji kada prijeđe kroz ili oko GP postaje EER. Utjecaj supraezofagealnog, odnosno EER na učestalost komplikacija vezanih uz samu GP i TEF te na kvalitetu glasa i govornu komunikaciju bolesnika nakon totalne laringektomije nije do sada dovoljno znanstveno istražen i obrazložen. Samo je 12 radova o utjecaju EER na GP objavljeno u svjetskoj literaturi na engleskom i njemačkom jeziku. Lorentz K. J. i suradnici su u svih bolesnika s uvećanom TEF našli izrazito loše rezultate 24-satne višekanalne pH-metrije (101). Boscollo-Rizzo P. i suradnici objavili su da radioterapija i GERB značajno skraćuju vrijeme trajanja GP (99). Drugi autori su pak pokazali da se u većine bolesnika s komplikacijama GP nakon stroge anti-refluksne terapije s IPP značajno smanjila učestalost i težina komplikacija GP (100, 102). Jobe i suradnici objavili su da fundoplikacija smanjuje žgaravicu i regurgitaciju koja dovodi do erozija GP ali ne utječe na kvalitetu traheozofagealnog glasa (217). Svi prethodno navedeni istraživači dijagnosticirali su refluks 24-satnom višekanalnom pH-metrijom, transnazalnom ezofagoskopijom, radiogramom s barijem ili fiberendoskopijom hipofarinksa. Jedino su Bock J. M. i sur. istraživali pepsin kod bolesnika s GP, te su *Western blot* analizom dokazali prisutnost pepsina u bioptatu sluznice TEF i sekretu aspiriranom oko TEF (218). S obzirom na značajno oslabljenu funkciju gornjeg sfinktera jednjaka supraezofagealni može vrlo lako prijeći u EER te smatramo da bismo analizom vrijednosti koncentracije pepsina u slini dobili pouzdane rezultate o prisutnosti EER u laringektomiranih bolesnika s GP.

## **2. HIPOTEZA**

Viša vrijednost koncentracije pepsina prisutna je u laringektomiranih bolesnika s govornom protezom u odnosu na kontrolne zdrave ispitanike, u bolesnika s komplikacijama u odnosu na bolesnike bez komplikacija govorne proteze te u bolesnika s lošijom kvalitetom glasa.



### 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

S obzirom na nedostatan broj relevantnih znanstvenih i kliničkih podataka o utjecaju ekstrezofoagealnog refluksa na učestalost komplikacija i kvalitetu glasa bolesnika s govornom protezom, ovo istraživanje ima prvenstveno znanstveni, ali i potencijalni dijagnostički i terapijski smisao.

Cilj je istraživanja prvi put istražiti odnos vrijednosti koncentracije pepsina u slini i učestalosti komplikacija govorne proteze te kvalitete glasa bolesnika s karcinomom glave i vrata nakon učinjene totalne laringektomije i postavljene govorne proteze.

Nakon što su određene i uspoređene vrijednosti koncentracije pepsina u slini bolesnika s govornom protezom i zdravih ispitanika, uspoređene su vrijednosti koncentracije pepsina među bolesnicima sa i bez komplikacija govorne proteze, te među bolesnicima s različitim kvalitetom glasa. Također je vrijednost koncentracije pepsina uspoređena između bolesnika s različitim najčešćim komplikacijama govorne proteze.

Učestalost komplikacija govorne proteze i analiza kvalitete glasa, te vrijednost koncentracije pepsina uspoređene su i među bolesnicima u kojih je provedena radioterapija ili radiokemoterapija i u bolesnika u kojih nije provedena radioterapija ili radiokemoterapija.

Također, cilj je bio istražiti uspješnost terapije pantoprazolom u liječenju komplikacija govorne proteze. U tu svrhu, uspoređena je učestalost komplikacija govorne proteze, kvaliteta glasa te vrijednosti koncentracije pepsina između bolesnika koji su uz standardno liječenje komplikacije govorne proteze dobivali pantoprazol i koji uz standardno liječenje komplikacije govorne proteze nisu dobivali pantoprazol.

Rezultati ovog istraživanja pridonijeli bi razvoju boljih dijagnostičkih i terapijskih protokola u svrhu poboljšanja kvalitete života bolesnika s postavljenom govornom protezom nakon totalne laringektomije, te smanjenja troškova liječenja.

## 4. ISPITANICI I METODE

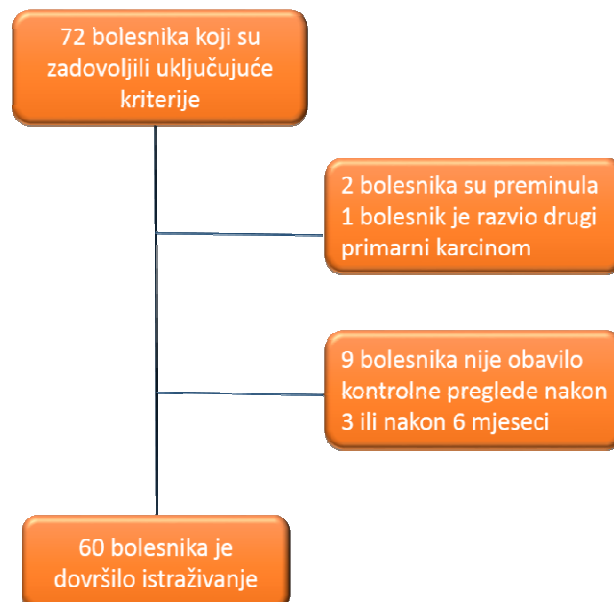
Znanstveno istraživanje za doktorsku disertaciju je temeljno, opažajno, presječno istraživanje skupine bolesnika i zdravih ispitanika.

### 4.1. Ispitanici

#### 4.1.1. Laringektomirani bolesnici s postavljenom govornom protezom

U istraživanje su uključena 72 laringektomirana bolesnika s postavljenom govornom protezom liječena od svibnja 2012. do svibnja 2013. godine u Odjelu za bolesti uha, grla i nosa i kirurgiju glave i vrata Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu, Klinici za bolesti uha, nosa i grla i kirurgiju glave i vrata KBC Zagreb, u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata KBC Rijeka, u Službi za tumore glave i vrata Klinike za tumore, KBC „Sestre milosrdnice“ i u Klinici za otorinolaringologiju i cervikofacijalnu kirurgiju KBC Osijek.

Analizirani su podatci 60 bolesnika kojima je zbog karcinoma glave i vrata izvedena totalna laringektomija te primarno ili sekundarno postavljena GP i provedena govorna rehabilitacija, a koji tijekom istraživanja nisu imali niti jedan od isključujućih kriterija te su obavili kontrolu nakon tri i nakon šest mjeseci od uključanja u studiju (slika 4.1.1.1.).



Slika 4.1.1.1. Shema isključivanja 12 bolesnika iz istraživanja

Kliničkim pregledom bolesnika utvrđeno je ili isključeno postojanje komplikacije GP. Komplikacije GP podijeljene su na komplikacije vezane uz kirurški postupak, komplikacije TEF i komplikacije same GP. Komplikacije same GP bile su curenje kroz GP i razvoj biofilma, dok su komplikacije vezane za TEF bile curenje oko GP, atrofija traheozofagealnog zida, hipotrofija traheozofagealnog zida, hipertrofija sluznice jednjaka, granulacije sluznice dušnika, povećanje promjera fistule i dislokacija GP. Atrofija traheozofagealnog zida definirana je kao debljina zida < 4 mm, izmjereno standardnim instrumentom, ili ako je proteza od 4,5 mm bila predugačka. Uveden je novi pojam hipotrofije traheozofagealnog zida koji podrazumijeva stanjenje zida za dva broja GP, pri čemu je kod prethodnog pregleda GP bila uredne veličine a pri trenutnom pregledu je potrebna za dva broja manja, te je debljina traheozofagealnog zida >4 mm. Povećanje promjera TEF izmjereno je dilatatorom TEF na kojem su označene različite veličine promjera, a pod povećanjem dijametra podrazumijevao se dijametar fistule veći od 9 mm. Hipertrofija sluznice jednjaka podrazumijevala je povećanje traheozofagealnog zida za 4 mm ili dva broja GP i/ili prolaps sluznice jednjaka kroz TEF ili ezofagoskopski potpuno prekrivenu GP sa sluznicom jednjaka. Također su utvrđene i komplikacije koje su posljedica kirurškog zahvata, totalne laringektomije, a koje utječu na kvalitetu glasa bolesnika s govornom protezom, a to su: hipertonicitet ili spazam faringozofagealne muskulature, hipotonicitet faringozofagealne muskulature, stenoza jednjaka i postojanje pseudoepiglotisa, odnosno pseudovalekule.

Bolesnici s komplikacijom govorne proteze randomizirani su u dvije skupine. U jednoj skupini bili su bolesnici s komplikacijom govorne proteze liječeni standardnim postupcima u zbrinjavanju komplikacija govorne proteze o kojima je odlučivao nadležni otorinolaringolog. U drugoj skupini bili su bolesnici s komplikacijom govorne proteze koji su liječeni standardnim postupcima u zbrinjavanju komplikacija govorne proteze i pantoprazolom, inhibitorom protonske pumpe, u dozi od 1 x 40 mg ujutro.

Ovisno o vrsti komplikacije koristili su se različiti postupci zbrinjavanja. U standardne postupke zbrinjavanja komplikacije govorne proteze ubrajaju se: promjena govorne proteze većeg ili manjeg promjera, duža ili kraća, s većim prirubicama, zatim postavljanje silikonskog prstena, šavova oko proteze ili pak vađenje proteze i spontano sužavanje traheozofagealne fistule ili primarno kirurško zatvaranje fistule ili zatvaranje fistule režnjem. Standardni postupci u rješavanju komplikacija koje su posljedica kirurškog postupka su

sekundarna miotomija, injekcije Botoxa, kompresivni zavoj, bužiranje ili pak resekcija pseudoepiglotisa, odnosno pseudovalekule.

Analizirani su demografski podatci, komorbiditeti, posebice prisutnost čimbenika rizika za EER, podatci o lijekovima koje bolesnici uzimaju redovito, podatci o alergijama na lijekove, te podatci o konzumaciji cigareta i alkohola. Analizirano je i vrijeme proteklo od učinjene totalne laringektomije i vrijeme formiranja TEF, primarno ili sekundarno, te podatci o učinjenoj miotomiji, selektivnoj disekciji vrata, radikalnoj disekciji vrata i radikalnoj modificiranoj disekciji vrata. Analizirani su i podatci o provedenoj radioterapiji i kemoterapiji. Također je analizirano i vrijeme proteklo od zadnje promjene GP.

#### **4.1.2. Kontrolna skupina**

U kontrolnu skupinu uključeno je 30 ispitanika koji su se u otorinolaringološku ambulantu Odjela za bolesti uha, grla i nosa i kirurgiju glave i vrata Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavonskom Brodu javili zbog različitih tegoba i koji nisu imali nijedan od isključujućih kriterija za kontrolnu skupinu.

Analizirani su demografski podatci, komorbiditeti, posebice prisutnost čimbenika rizika za EER, podatci o lijekovima koje bolesnici uzimaju redovito te podatci o konzumaciji cigareta i alkohola.

#### **4.1.3. Isključujući kriteriji**

U istraživanje nisu bili uključeni bolesnici s GP u kojih se provodila RT ili KRT za vrijeme istraživanja te bolesnici koji su do mjesec dana prije uključivanja u istraživanje redovito uzimali inhibitore protonske pumpe, blokatore H<sub>2</sub> receptora ili antacide.

Isključujući kriteriji za kontrolnu skupinu bili su zloćudna bolest, akutna zarazna bolest, simptomi ili klinički znakovi EER (RSI < 5, RFS = 0) ili gastritisa (česte žgaravice i/ili regurgitacija i/ili pH-metrijom i/ili ezofagogastroskopski dijagnosticiran gastritis) te redovita terapija inhibitorima protonske pumpe, blokatorima H<sub>2</sub> receptora ili antacidima do mjesec dana prije uključivanja u istraživanje.

Za sva navedena stanja postoje dokazi o značajnom utjecaju na EER.

#### 4.1.4. Postupanje s ispitanicima

Nakon informiranja o istraživanju i potpisa suglasnosti za sudjelovanje, svim ispitanicima uzet je uzorak sline od 5 ml pljuvanjem pri prvom pregledu, a bolesnicima s GP i prilikom dolaska na kontrolne preglede nakon tri i šest mjeseci. Uključivanje ispitanika u istraživanje te prikupljanje uzoraka sline obavljala je glavna istraživačica/pristupnica. Neposredno po uzimanju uzorci su bili šifrirani i ime ispitanika nikada nije otkriveno. Uzorci sline bolesnika i kontrola jednako su tretirani tijekom cijele studije. Nakon svih učinjenih analiza ostatci uzoraka sline su se prema zakonu o zbrinjavanju biološkog materijala propisno uništili i zbrinuli.

Uz uzimanje uzoraka sline pljuvanjem, ovo istraživanje nije uključivalo nikakve druge invazivne dijagnostičke i terapijske postupke, osim onih koji se rutinski obavljaju u postupku liječenja bolesnika s komplikacijom GP. Jedini rizici kojima su bolesnici bili izloženi jesu dobro zabilježene nuspojave pantoprazola, koji je odobrila Agencija za lijekove i medicinske proizvode u Republici Hrvatskoj. Tijekom istraživanja koristio se pantoprazol, inhibitor protonске pumpe, u dozi od 1 x 40 mg dnevno, za koji su opisane sljedeće nuspojave. Česte nuspojave su poremećaji probavnog sustava (bol u gornjem dijelu želuca, proljev, zatvor, nadutost) i glavobolja. Manje često mogu se pojaviti mučnina i povraćanje, vrtoglavica, poremećaji vida i alergijske reakcije poput osipa na koži i svrbeža. U rijetkim slučajevima pojavljuju se suhoća usta, artralgija te depresija, halucinacije, dezorijentiranost i zbunjenost, posebno u predisponiranih bolesnika, kao i pogoršanje tih simptoma ako su već bili prisutni. Vrlo rijetko (u pojedinačnim slučajevima) zabilježeni su leukopenija, trombocitopenija, periferni edem, teško hepatocelularno oštećenje s posljedičnom žuticom sa ili bez zatajenja jetre, anafilaksijske reakcije, uključujući i anafilaktični šok, porast jetrenih enzima, porast triglicerida, povišenje tjelesne temperature, mialgija, mentalna depresija, intersticijski nefritis, urtikarija, angioedem, teške kožne reakcije poput Stevens Johnsonovog sindroma, multiformnog eritema i Lyellovog sindroma, te povećana osjetljivost na svjetlost. O svakoj nuspojavi bolesnik je trebao izvijestiti svog liječnika, otorinolaringologa ili istraživača.

Smatramo da su koristi za ispitanike veće od rizika kojima su bili izloženi te su navedeni rizici etički i profesionalno prihvatljivi.

Svi podatci skupljeni za vrijeme istraživanja i za vrijeme praćenja bolesnika služili su samo u svrhu izrade teme doktorata i planiranih publikacija u sklopu teme doktorata, a identitet svih ispitanika ostat će uvijek povjerljiv i zaštićen.

Ovo istraživanje odobrili su Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Etičko povjerenstvo Opće bolnice „Dr. J. Benčević“, Etičko povjerenstvo KBC Zagreb, Etičko povjerenstvo KBC Rijeka, Etičko povjerenstvo KBC Sestre milosrdnice i Etičko povjerenstvo KBC Osijek, nakon temeljite analize dostavljenog prijedloga istraživanja i popratne dokumentacije. Istraživanje je provedeno u skladu sa svim primjenljivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje istraživanja te sigurnost osoba koje u njemu sudjeluju, uključujući «Osnove dobre kliničke prakse» i «Helsinšku deklaraciju».

#### **4.2. Metode**

Svakom bolesniku nakon uzimanja detaljnih podataka iz povijesti bolesti, anamnestičkih podataka o trenutačnim tegobama vezanim za GP, kliničkim je pregledom utvrđeno postojanje i vrsta komplikacije i određena kvaliteta glasa prema HRS skali uz pomoć uniformiranog obrasca. Izabrana je HRS skala jer za svakodnevnu kliničku praksu daje dovoljno relevantnih informacija o uspješnosti rehabilitacije traheozofagealnog glasa i govora s GP. Također je pomoću HRS skale glavna istraživačica/pristupnica mogla samostalno odrediti uspješnost rehabilitacije traheozofagealnog glasa na svakom radilištu. Bolesnicima je uzet po jedan uzorak sline od 5 ml pljuvanjem u sterilnu plastičnu čašu s poklopcem. Bolesnici s komplikacijom GP zatim su randomizirani u dvije skupine pomoću *softverskog* programa za randomizaciju na internetskoj stranici [www.randomization.com](http://www.randomization.com). Ukupno trajanje sudjelovanja bolesnika s GP u kliničkom ispitivanju je šest mjeseci, uključujući dva kontrolna posjeta tri i šest mjeseci nakon uključivanja u kliničko ispitivanje. Kontrolni pregledi obavljani su jednako kao i prvi pregled, te uz standardni postupak liječenja bolesnici su dali po jedan uzorak sline od 5 ml.

Kontrolni ispitanici uključeni su u istraživanje nakon što su dali detaljne anamnestičke podatke i obavili standardni otorinolaringološki pregled te im je utvrđeno nepostojanje isključujućih kriterija. Kontrolni ispitanici dali su samo jedan uzorak sline pljuvanjem od 5 ml u sterilnu plastičnu čašu s poklopcem, a daljnje kontrole i terapijski postupci nisu vezani uz istraživanje i ovisili su o tegobama zbog kojih su i došli u otorinolaringološku ambulantu.

Svi uzorci sline pohranjeni su u hladnjaku na +4°C do 48 sati, a zatim na -20°C te transportirani na Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb gdje se metodom ELISA dokazivao pepsin u uzorku.

#### 4.2.1. ELISA

Koncentracija pepsina u uzorcima sline određena je enzimoimunotestom (ELISA). Korišten je komercijalni test (Causabio Biotech Co., LTD., Kina). Mikrotitarske pločice u kitu su obložene s antitijelima specifičnim za humani pepsin.

Sakupljeni uzorci sline su zamrznuti na  $-20^{\circ}\text{C}$  i prije određivanja odmrznuti na sobnu temperaturu. U jažice mikrotitarske pločice dodavano je po 100  $\mu\text{l}$  razrijeđenih uzoraka sline (u omjeru 1:200 s razrjeđivačem uzoraka) i standarda te se inkubiralo 120 min na  $37^{\circ}\text{C}$ . Zatim se uzorak inkubirao s 100  $\mu\text{l}$  biotiniziranog antitijela specifičnog za pepsin 60 min na  $37^{\circ}\text{C}$ . Nakon ispiranja vršila se inkubacija s po 100  $\mu\text{l}$  konjugata avidina s peroksidaza hrena 60 min na  $37^{\circ}\text{C}$ . I nakon sljedećeg ispiranja dodavalo se po 100  $\mu\text{l}$  TMB (3,3',5,5 tetrametil-benzidin) supstrata. Inkubacija sa supstratom trajala je od 15 do 30 min u tami nakon čega se reakcija zaustavila sa stop otopinom i očitala apsorbancu razvijene boje na 450 nm.

Rezultati mjerenja izračunati su prema standardnoj krivulji i izraženi u pg/ml.

#### 4.3. Statistička analiza

Kategoričke varijable prikazane su deskriptivno i testirane chi kvadrat testom za procjenu razlika među skupinama.

Kolmogorov-Smirnovljevim i Shapiro-Wilkovim testom ispitana je normalnost raspodjele rezultata svih numeričkih kontinuiranih varijabli.

Numeričke varijable s normalnom raspodjelom prikazane su prosječnom vrijednošću i standardnom devijacijom, a razlike među pojedinim skupinama ispitane su Student t-testom.

Numeričke varijable s nenormalnom raspodjelom prikazane su medijanom vrijednosti, uz 25. i 75. percentilu za procjenu raspršenja. Razlike među pojedinim skupinama ispitane su Mann-Whitneyjevim testom za neovisne uzorke.

Korelacije između numeričkih varijabli s nenormalnom raspodjelom testirane su Spearmannovim testom korelacije. U svrhu ispitivanja korelacije i razine međuovisnosti pojedinih varijabli neovisno o ostalim varijablama korištena je linearna regresijska analiza. Razina značajnosti podešena je na  $P < 0,05$ . Za statističku analizu korišten je statistički paket SPSS for Windows 11.0.3. (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## 5. REZULTATI

### 5.1. Značajke ispitivanih skupina

U istraživanju su analizirani podatci 60 laringektomiranih bolesnika s GP i 30 zdravih kontrolnih ispitanika koji su zadovoljili isključujuće kriterije. Njihove demografske i kliničke značajke prikazane su u tablici 5.1.1. Iako je udio bolesnika dvostruko veći, ispitivane skupine nisu se statistički značajno razlikovale ni po dobi, spolu niti po konzumaciji cigareta, dok je udio ispitanika koji redovito konzumiraju alkohol bio značajno veći u skupini bolesnika.

Tablica 5.1.1 Demografske i kliničke značajke ispitivanih skupina

Demografske i kliničke značajke	Bolesnici (N=60)	Kontrolni ispitanici (N=30)
Dob, median (raspon)	62 (47-87)	59 (41-80)
Muški spol, N (%)	56 (93)	24 (80)
Pušenje, N (%)	8 (13)	6 (20)
Konzumacija alkohola, N (%)	28 (46)	3 (7)
Arterijska hipertenzija, N (%)	21 (35)	/
Šećerna bolest, N (%)	4 (7)	/
Radikalna disekcija vrata, N (%)	11 (18)	/
Selektivna disekcija vrata, N (%)	17 (28)	/
Miotomija, N (%)	19 (32)	/
Adjuvantna radioterapija, N (%)	39 (65)	/
Adjuvantna kemoterapija, N (%)	4 (7)	/
Primarno formirana TEF, N (%)	45 (75)	/
Vrijeme od formiranja TEF, medijan mjeseci (raspon)	24,5 (3-173)	/
Vrijeme od zadnje promjene GP, medijan mjeseci (raspon)	2 (1-14)	/

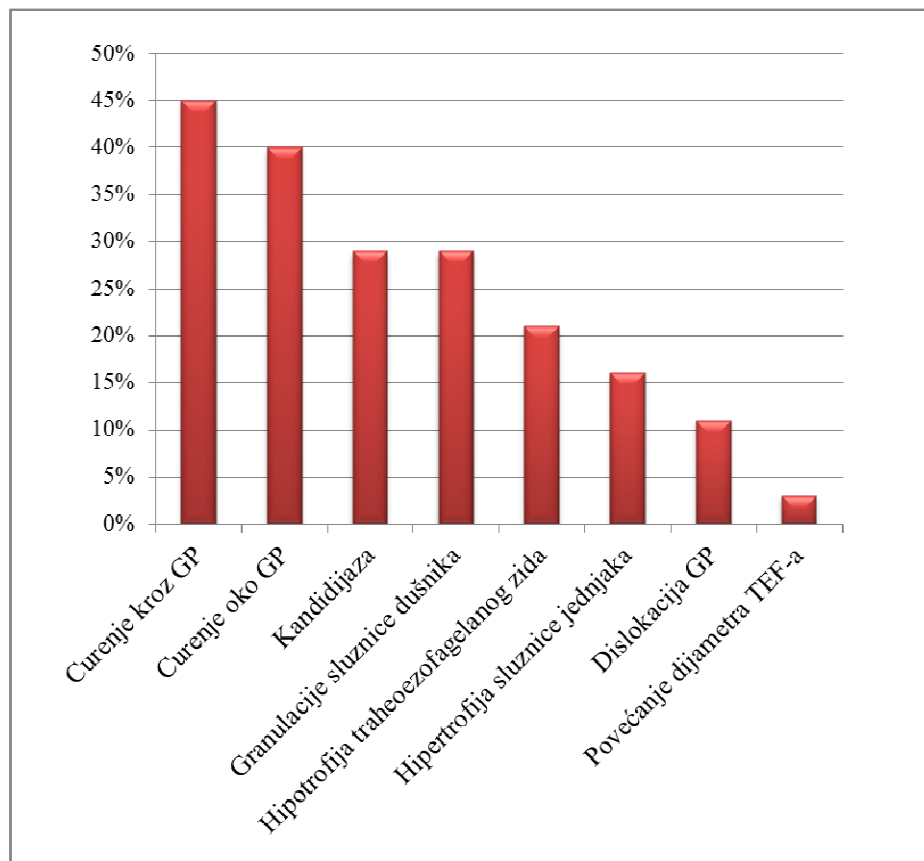
Posebno su analizirane kliničke značajke koje utječu na razvoj EER kao što su pušenje, konzumacija alkohola, šećerna bolest, miotomija, RT te primarno ili sekundarno formiranje TEF. I nakon operativnog zahvata 13% bolesnika nastavilo je pušiti cigarete, a čak 46% redovito konzumira alkohol. Iz prethodne tablice vidljivo je da je u 1/3 bolesnika



učinjena miotomija, a u 3/4 bolesnika primarno je formirana TEF. U 2/3 bolesnika bila je provedena adjuvantna radioterapija.

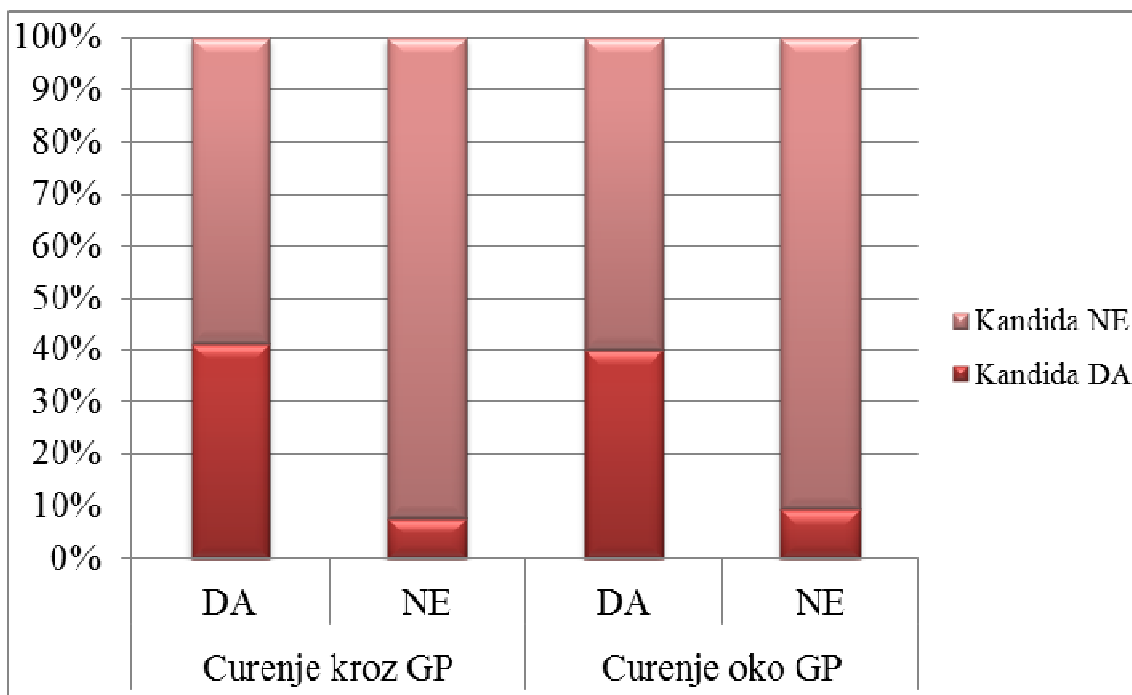
## 5.2. Komplikacije govorne proteze

Trideset i četiri (57%) bolesnika imalo je jednu ili više komplikacija GP. Najčešće komplikacije su curenje kroz GP (45%) i curenje oko GP (40%), a zatim slijede stvaranje biofilma na GP, odnosno kandidijaza GP te granulacije sluznice traheje (slika 5.2.1.). 20% bolesnika imalo je hipotrofiju TEF koju smo definirali kao smanjenje traheozofagealnog zida za 4 mm ili 2 broja GP, pri čemu je prilikom prethodne promjene odabrana GP bila uredne veličine, a traheozofagealni zid nije tanji od 4 mm (slika 5.2.1.). Ostale komplikacije bile su rjeđe. Dva bolesnika imala su dislokaciju GP: jedan je imao djelomičnu dislokaciju prema traheji dok je drugi imao ekstruziju GP u jednjak, a niti jedan bolesnik u ovom istraživanju nije aspirirao GP. Samo u jednog bolesnika zabilježena je atrofija traheozofagealnog zida i povećanje dijametra fistule. Nije bilo bolesnika s hipotonicitetom faringozofagealnog segmenta, s pseudovalekulom ili pseudoepiglotisom.



Slika 5.2.1. Učestalost komplikacija GP

Bolesnici koji su imali curenje kroz ili oko GP imali su u 41%, odnosno 40% slučajeva prisutnu kandidijazu GP. Relativni rizik za razvoj tih komplikacija bio je značajno veći u bolesnika s kandidijazom GP (curenje kroz GP, OR 8,225, CI 2,017-33,533; curenje oko GP, OR 6,400, CI 1,604-25,541; slika 5.2.2).



Slika 5.2.2. Učestalost curenja oko i kroz GP u odnosu na kandidijazu GP (statistički značajne razlike, chi kvadrat test,  $p < 0,001$ ).

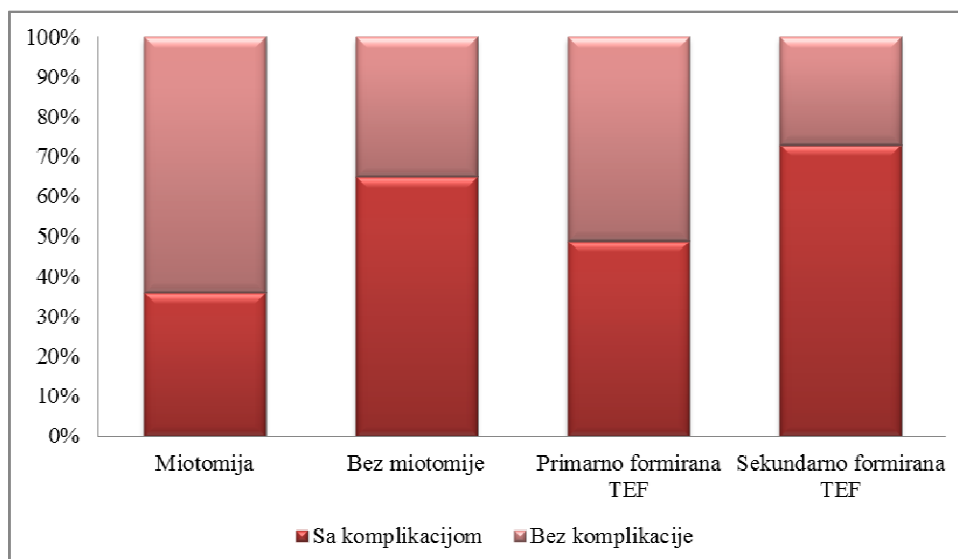
Uspoređujući sve kliničke značajke s učestalošću komplikacija jedino su miotomija, primarno, odnosno sekundarno formiranje TEF i vrijeme proteklo od posljednje promjene GP statistički značajno utjecali na učestalost komplikacija GP (tablica 5.2.1.).

Tablica 5.2.1. Učestalost komplikacija s obzirom na različite kliničke značajke bolesnika

Kliničke značajke	Bolesnici, N (%)		
	Bez komplikacije, N=26	Komplikacija, N=34	P vrijednost
Pušenje	3 (12)	5 (15)	0,721
Alkohol	13 (50)	15 (44)	0,651
Arterijska hipertenzija	12 (46)	9 (26)	0,113
Šećerna bolest	2 (8)	2 (6)	0,781
Radikalna disekcija vrata	7 (27)	4 (12)	0,133
Selektivna disekcija vrata	5 (19)	12 (35)	0,171
Miotomija	12 (46)	7 (20)	<b>0,035*</b>
Adjuvantna radioterapija	18 (69)	21 (62)	0,548
Adjuvantna kemoterapija	2 (8)	2 (6)	0,781
Primarno formirana TEF	23 (88)	22 (65)	<b>0,035*</b>

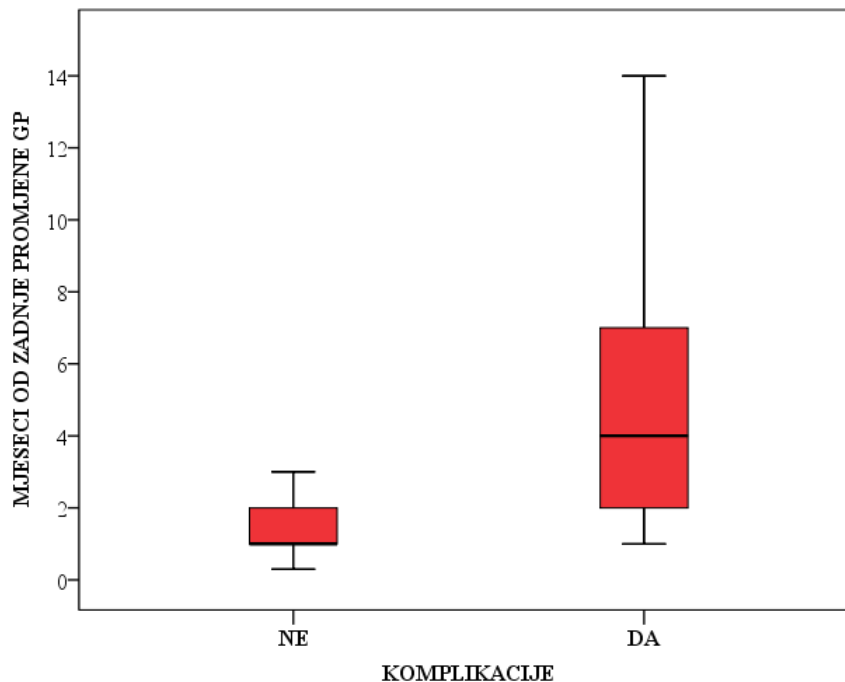
\* Statistički značajna razlika, chi kvadrat test,  $p < 0,05$ .

Među bolesnicima s miotomijom učestalost komplikacija GP bila je statistički značajno manja u odnosu na bolesnike bez miotomije (slika 5.2.2.). Pri tome je među bolesnicima s učinjenom miotomijom bio statistički značajno manji udio bolesnika s curenjem kroz GP (chi kvadrat test,  $p = 0,036$ ). Također je među bolesnicima sa sekundarno formiranom TEF bio značajno veći udio komplikacija GP u odnosu na one s primarno formiranom TEF (slika 5.2.2.).



Slika 5.2.2. Učestalost komplikacija GP u odnosu na miotomiju i primarno/sekundarno formiranje TEF (statistički značajne razlike, chi kvadrat test,  $p < 0,05$ ).

Medijan vremena proteklog od zadnje promjene GP u bolesnika s komplikacijom GP iznosio je četiri mjeseca i bio je značajno duži u odnosu na medijan vremena od zadnje promjene GP bolesnika bez komplikacije koji je iznosio jedan mjesec (slika 5.2.3. ).



Slika 5.2.3. Razlike u medijanu i interkvartilnom rasponu vremena od zadnje promjene GP u mjesecima između bolesnika s komplikacijama i bolesnika bez komplikacija (Mann-Whitneyjev test,  $Z = -4,528$ ,  $p < 0,001$ ).

Također su analizirane i razlike u medijanu vremena od zadnje promjene GP za svaku pojedinu komplikaciju, te je nađena statistički značajna razlika za curenje kroz GP, curenje oko GP i kandidijazu (tablica 5.2.2.)

Tablica 5.2.2. Razlike u medijanima vremena od zadnje promjene GP između bolesnika s i bez curenja kroz GP, curenja oko GP i kandidijaze GP.

Komplikacija		Vrijeme od zadnje promjene GP u mjesecima, medijan (raspon)	p vrijednost*
Curenje kroz GP	DA	4 (1-14)	0,001
	NE	2 (0-13)	
Curenje oko GP	DA	3,5 (1-12)	0,036
	NE	2 (0-14)	
Kandidijaza GP	DA	7 (2-14)	0,001
	NE	2 (0-12)	

\* Statistički značajna razlika, Mann-Whitneyjev test

Analiza utjecaja vremena od zadnje promjene GP na pojavu kandidijaze GP linearnom regresijom pokazala je statistički značajnu pozitivnu korelaciju ( $R=0,464$ ,  $P<0,001$ ) uz umjerenu razinu direktne ovisnosti vremena zadnje promjene GP na pojavu kandidijaze GP ( $R^2=0,261$ ). Ostale kliničke značajke nisu statistički značajno utjecale na učestalost ni jedne od komplikacija GP.

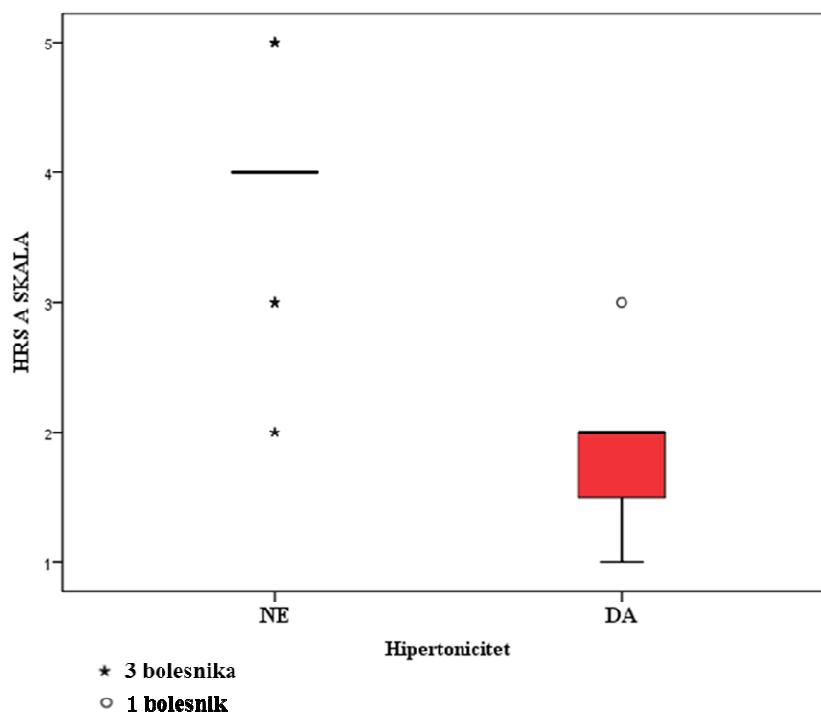
### 5.3. Kvaliteta glasa bolesnika s GP mjerena HRS skalom

Glasovna rehabilitacija bila je uspješna (HRS A, B i C>3) u 75% bolesnika. Kvaliteta i upotreba traheozofagealnog glasa mjerenih HRS skalom pokazale su vrlo dobru glasovnu rehabilitaciju bolesnika (tablica 5.3.1). Većina bolesnika vodi vrlo dobru brigu o GP, a najviša ocjena je 4 jer se u Hrvatskoj koriste samo dugostojeće GP čiju promjenu obavlja liječnik otorinolaringolog (tablica 5.3.1.)

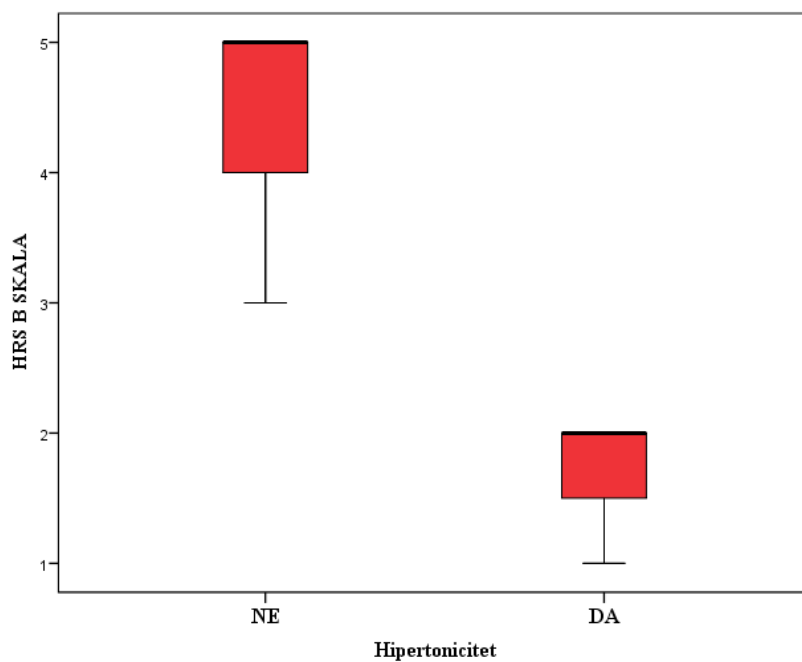
Tablica 5.3.1. Kvaliteta glasa mjerena HRS skalom u bolesnika sa i bez komplikacija GP

HRS skala		Bez komplikacija		Komplikacije		Ukupno	
		N (%)	Median	N (%)	Median	N (%)	Median
HRS A	1	0 (0)		2 (100)		2 (100)	
	2	2 (28)		5 (72)		7 (100)	
	3	3 (75)	4	1 (25)	4	4 (100)	4
	4	18 (44)		23 (56)		41 (100)	
	5	3 (50)		3 (50)		6 (100)	
HRS B	1	0 (0)		3 (100)		3 (100)	
	2	3 (43)		4 (57)		7 (100)	
	3	1 (33)	5	2 (67)	5	3 (100)	5
	4	7 (50)		7 (50)		14 (100)	
	5	15 (45)		18 (55)		33 (100)	
HRS C	1	1 (100)		0 (0)		1 (100)	
	2	0 (0)		2 (100)		2 (100)	
	3	4 (50)	4	4 (50)	4	8 (100)	4
	4	21 (43)		28 (57)		49 (100)	
	5	0 (0)		0 (0)		0 (0)	

Upotreba traheozofagealnog govora mjerena HRS A skalom pokazala je jaku pozitivnu korelaciju s kvalitetom glasa mjerenom HRS B skalom (Spearmanov rho, koeficijent korelacije 0,67,  $p < 0,001$ ). Održavanje GP mjereno HRS C skalom pokazuje iznimno slabu pozitivnu korelaciju s kvalitetom (HRS B) i uporabom (HRS A) traheozofagealnog govora (Spearmanov rho, koeficijent korelacije 0,070,  $p = 0,573$  i koeficijent korelacije 0,110,  $p = 0,371$ ). Kvaliteta i upotreba traheozofagealnog glasa nije se značajno razlikovala među bolesnicima sa i bez komplikacija GP (tablica 5.3.1.). Međutim, podanalizom svake pojedine komplikacije urvrđeno je da su bolesnici s atrofijom i curenjem oko GP imali značajno manji medijan vrijednosti HRS B skale (Mann-Whitneyjev test,  $Z = -2,294$  i  $-2,415$ , tim redom,  $p < 0,05$ ). Također, u osam bolesnika s hipertonicitetom nađen je značajno manji medijan HRS A i HRS B skale u odnosu na bolesnike bez hipertoniciteta (slika 5.3.1.)



5.3.1. Razlike u medijanu i interkvartilnom rasponu HRS A skale između bolesnika s hipertonicitetom i bolesnika bez hipertoniciteta (Mann-Whitneyjev test,  $Z=-5,233$ ,  $p<0,001$ ).

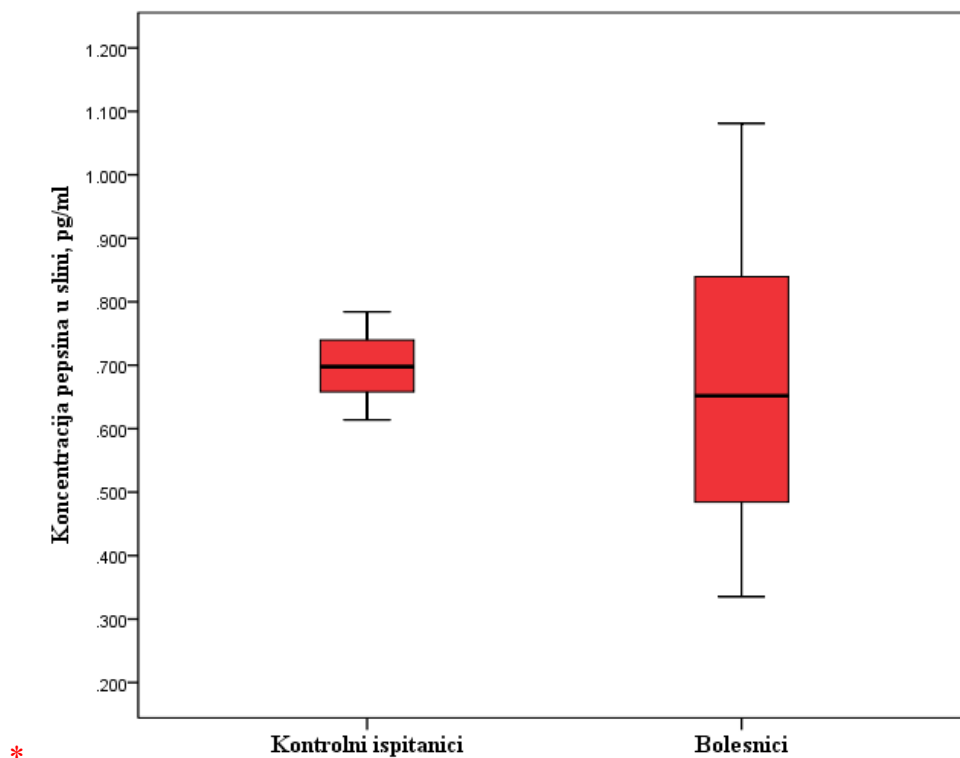


Slika 5.3.2. Razlike u medijanu i interkvartilnom rasponu HRS B skale između bolesnika s hipertonicitetom i bolesnika bez hipertoniciteta (Mann-Whitneyjev test,  $Z=-4,481$ ,  $p<0,001$ ).

#### 5.4. Vrijednost koncentracije pepsina u slini ispitivanih skupina

U svih ispitanika, i bolesnika i zdravih kontrolnih ispitanika, dokazana je prisutnost pepsina u slini.

Medijan vrijednosti koncentracije pepsina u slini svih bolesnika iznosio je 0,652 pg/ml (raspon od 0,335 do 1,879) i nije se statistički značajno razlikovao od medijana vrijednosti koncentracije pepsina zdravih ispitanika, 0,698 pg/ml (raspon od 0,614 do 0,912) (Mann-Whitneyjev test,  $Z=-1,153$ ,  $p=0,249$ ) (slika. 5.4.1).



Slika 5.4.1. Medijani i interkvartilni rasponi vrijednosti koncentracije pepsina u slini ispitivanih skupina

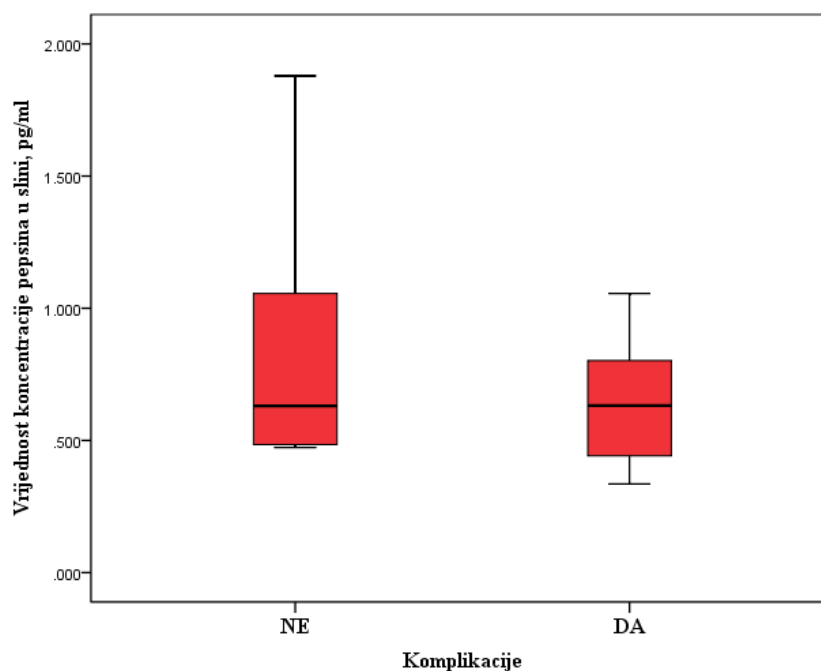
Medijan vrijednosti koncentracije pepsina u slini nije se značajno razlikovao među bolesnicima s različitim kliničkim značajkama, kao niti među bolesnicima sa i bez kliničkih značajki koje utječu na EER: konzumacija alkohola, pušenje, miotomija i radioterapija (tablica 5.4.1.).

Tablica 5.4.1. Odnos vrijednosti pepsina u slini bolesnika s različitim kliničkim osobinama



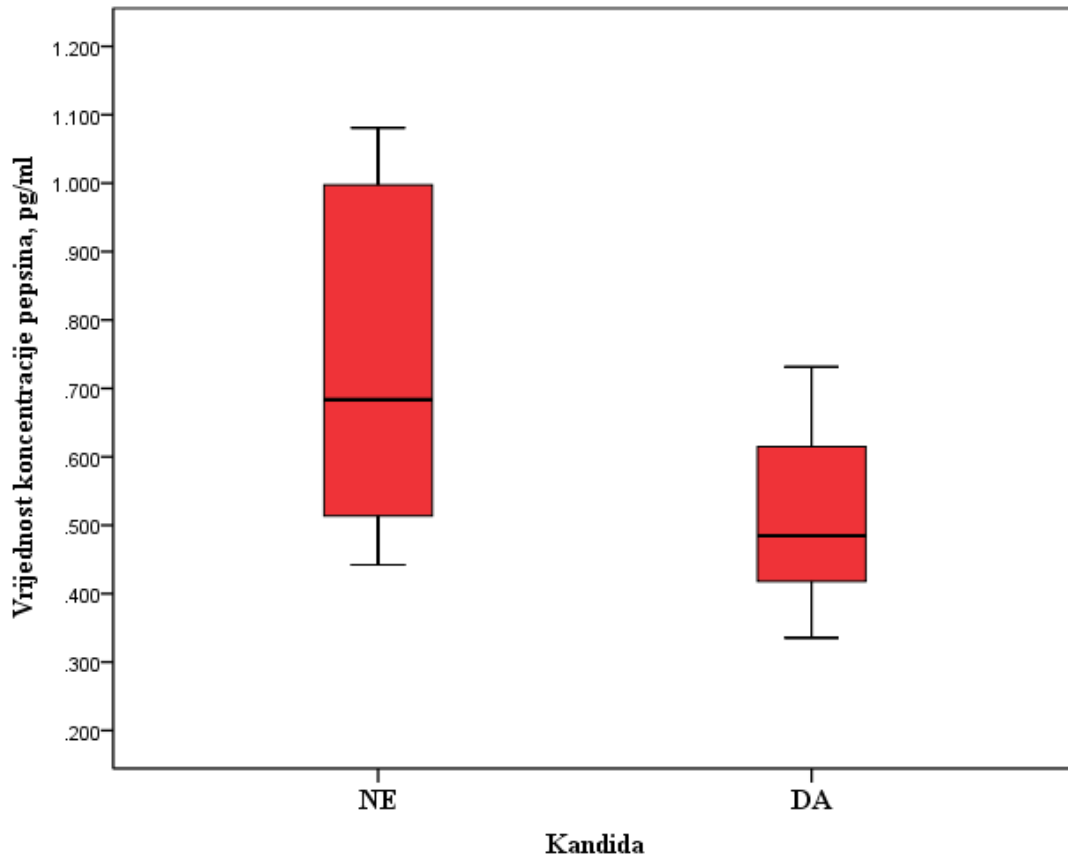
Kliničke značajke		Medijan vrijednosti koncentracije pepsina u slini u pg/ml (raspon)	p vrijednost
Pušenje	DA	0,802 (0,595 – 1,056)	0,111
	NE	0,576 (0,394 – 1,879)	
Alkohol	DA	0,675 (0,442 – 1,056)	0,767
	NE	0,543 (0,394 – 1,879)	
Miotomija	DA	0,602 (0,442 – 1,879)	0,710
	NE	0,696 (0,335 – 1,081)	
Provedena RT	DA	0,595 (0,335 – 1,879)	0,460
	NE	0,715 (0,462 – 1,081)	

Medijan vrijednosti koncentracije pepsina nije se značajno razlikovao između bolesnika sa i bez komplikacija GP (0,668 pg/ml, raspon od 0,335 do 1,633 vs. 0,631 pg/ml, raspon od 0,473 do 1,879, Mann-Whitneyjev test,  $Z=-0,620$ ,  $p=0,535$ ) (slika 5.4.2).



Slika 5.4.2. Medijani i interkvartilni rasponi vrijednosti koncentracije pepsina u slini bolesnika sa i bez komplikacija GP

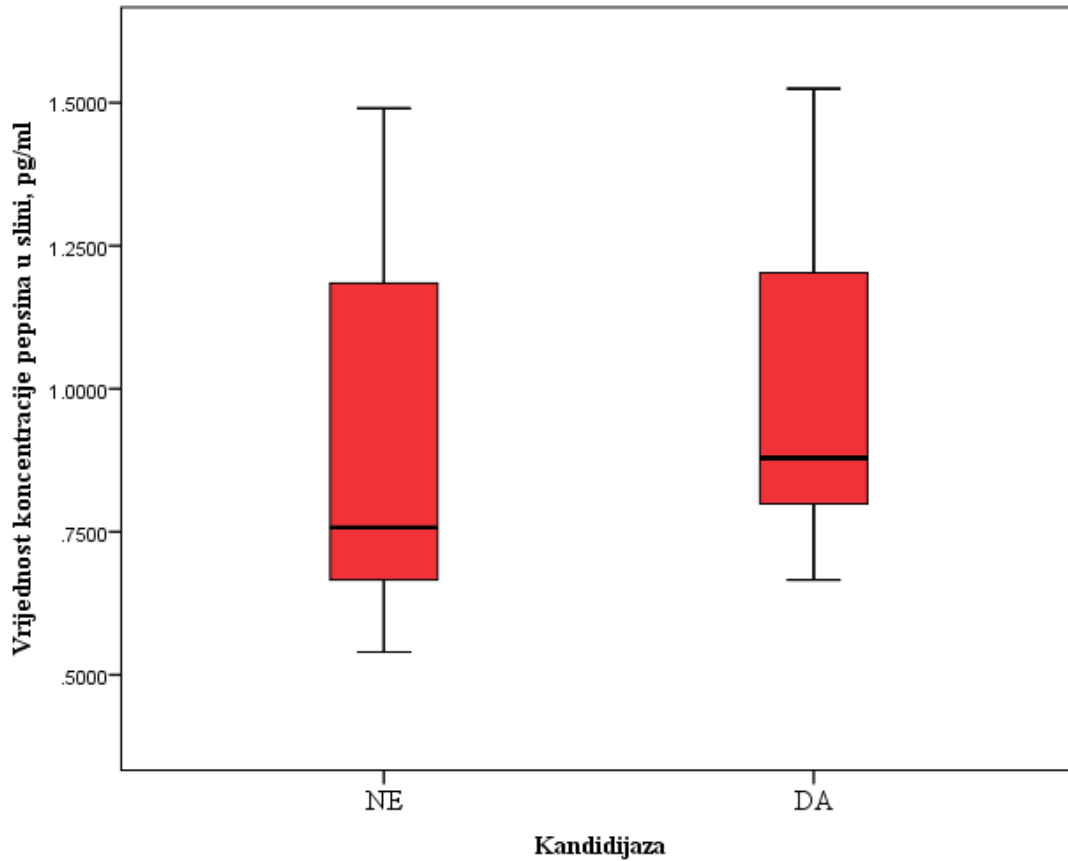
Analizom medijana vrijednosti koncentracije pepsina za svaku pojedinu komplikaciju, nađen je značajno niži medijan vrijednosti pepsina u bolesnika s kandidijazom GP (slika 5.4.3). Za ostale komplikacije nisu nađene značajne razlike u medijanima vrijednosti koncentracije pepsina.



Slika 5.4.3. Medijani i interkvartilni rasponi vrijednosti pepsina u bolesnika sa i bez kandidijaze (Mann-Whitneyjev test,  $Z=-2,189$ ,  $p=0,029$ )

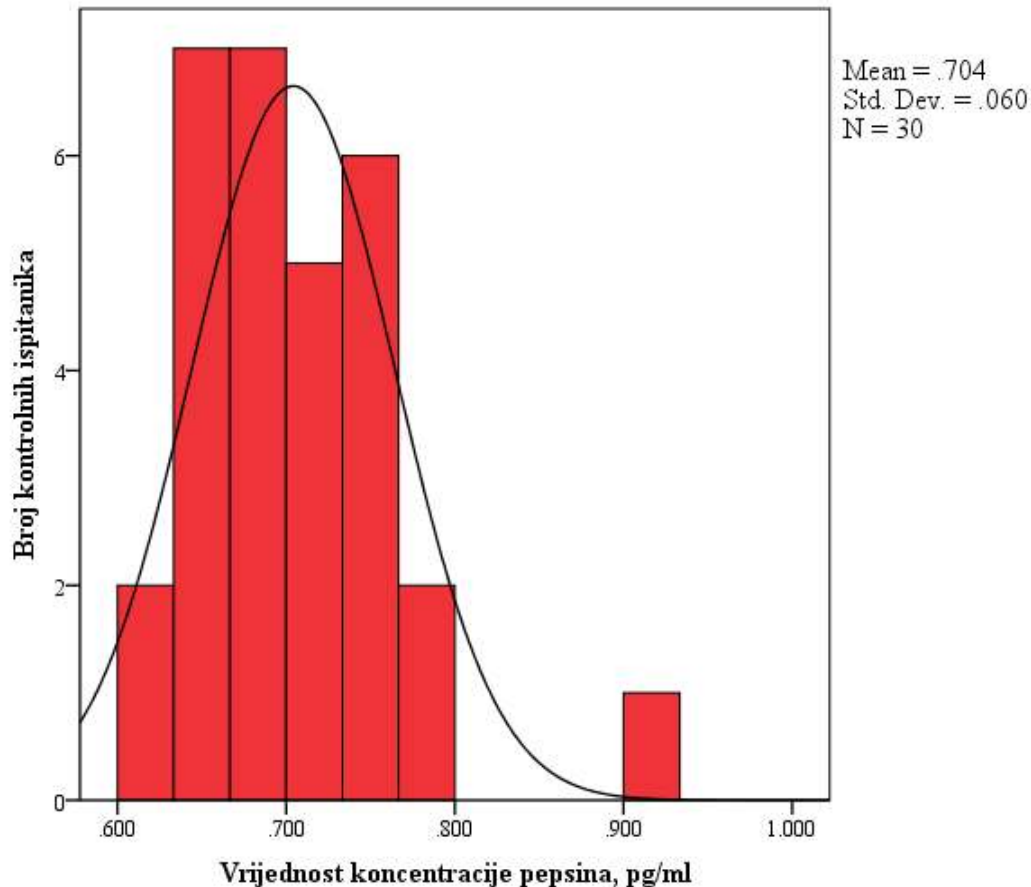
Daljnjom analizom podataka nađena je statistički značajna negativna korelacija vrijednosti koncentracije pepsina i kandidijaze GP (Spearmanov  $\rho$   $-0,421$ ,  $p=0,026$ ), dok je linearna regresija mogućeg utjecaja vrijednosti pepsina na pojavu kandidijaze pokazala statistički značajnu pozitivnu korelaciju ( $R=0,379$ ,  $p=0,046$ ), uz nisku ovisnost kandidijaze GP o vrijednosti koncentracije pepsina u slini ( $R^2=0,114$ ). S obzirom na oprečne rezultate i dokazan značajan utjecaj vremena od zadnje promjene GP na prisutnost kandidijaze GP, učinjena je analiza istih varijabli pri prvom kontrolnom pregledu kad za sve bolesnike vrijeme od zadnje promjene GP nije bilo duže od tri mjeseca, pri čemu je isključeno 13 bolesnika na IPP terapiji. U ovoj skupini bolesnika nije dokazana statistički značajna razlika u medijanu vrijednosti koncentracije pepsina među bolesnicima sa i bez kandidijaze (slika 5.4.4.), a

analiza utjecaja koncentracije pepsina i pojave kandidijaze GP linearnom regresijom pokazala je statistički beznačajnu pozitivnu korelaciju ( $R=0,194$ ,  $p=0,353$ ) s iznimno niskom međusobnom ovisnošću ispitivanih varijabli ( $R^2=0,038$ ).



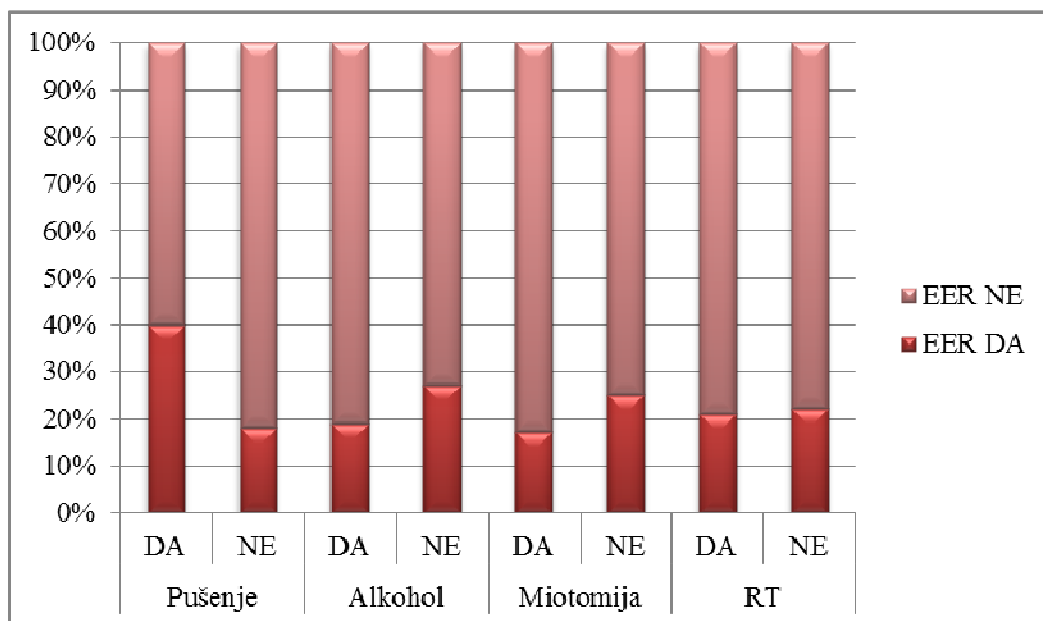
Slika 5.4.4. Medijani i interkvartilni rasponi vrijednosti pepsina u bolesnika s kandidijazom i bez nje pri prvom kontrolnom pregledu (Mann-Whitneyjev test,  $Z=-1,333$ ,  $p=0,183$ )

S obzirom na normalnu raspodjelu rezultata vrijednosti koncentracije pepsina u slini zdravih bolesnika za potrebe ovog istraživanja raspon normalne vrijednosti koncentracije pepsina izračunat je kao srednja vrijednost pepsina zdravih ispitanika  $\pm 3$  standardne devijacije čime je obuhvaćeno 95% rezultata zdravih kontrolnih ispitanika (slika 5.4.5).



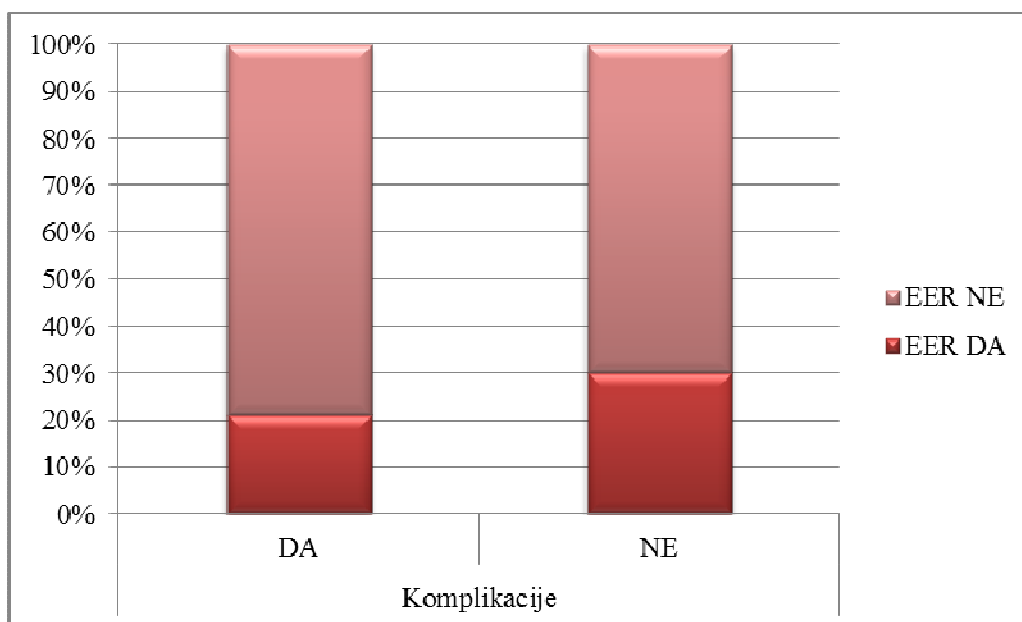
Slika 5.4.5. Raspodjela rezultata vrijednosti koncentracije pepsina u slini ispitanika kontrolne skupine

Vrijednost preko 0,884 pg/ml smatrana je povišenom, odnosno abnormalnom te je tako u svih bolesnika s vrijednostima pepsina iznad 0,884 pg/ml dijagnosticiran EER. Među 60 laringektomiranih bolesnika bilo je 15 (25%) bolesnika s EER koji je dijagnosticiran na temelju vrijednosti koncentracije pepsina u slini. Redovita konzumacija alkohola, pušenje, miotomija, radioterapija nisu značajno utjecale na učestalost EER (slika 5.4.6.).



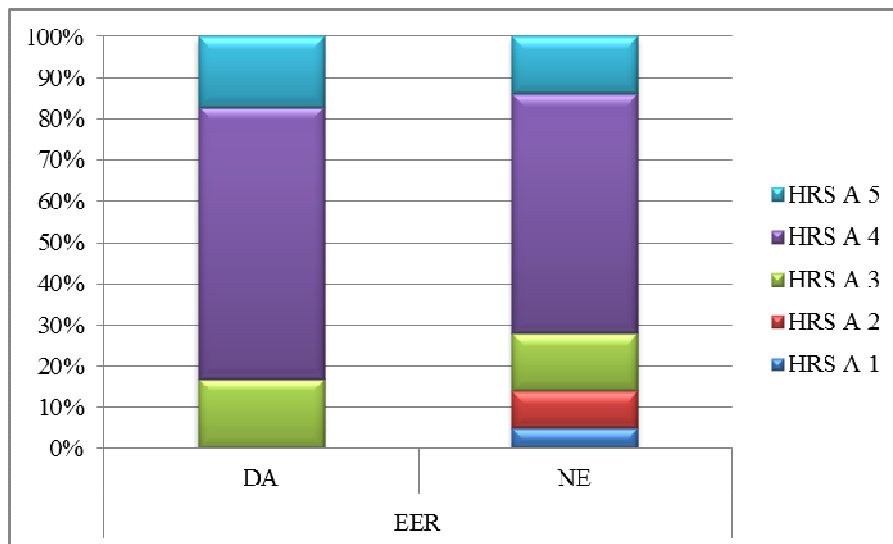
Slika 5.4.6. Učestalost EER-a u odnosu na različite kliničke značajke bolesnika (chi kvadrat test,  $p > 0,05$ ).

Također se učestalost EER nije značajno razlikovala među bolesnicima sa i bez komplikacija GP (Slika 5.4.7), niti je povećana ili smanjena učestalost EER dokazana kod ijedne od pojedinačnih komplikacija (chi kvadrat test,  $p > 0,05$ ).

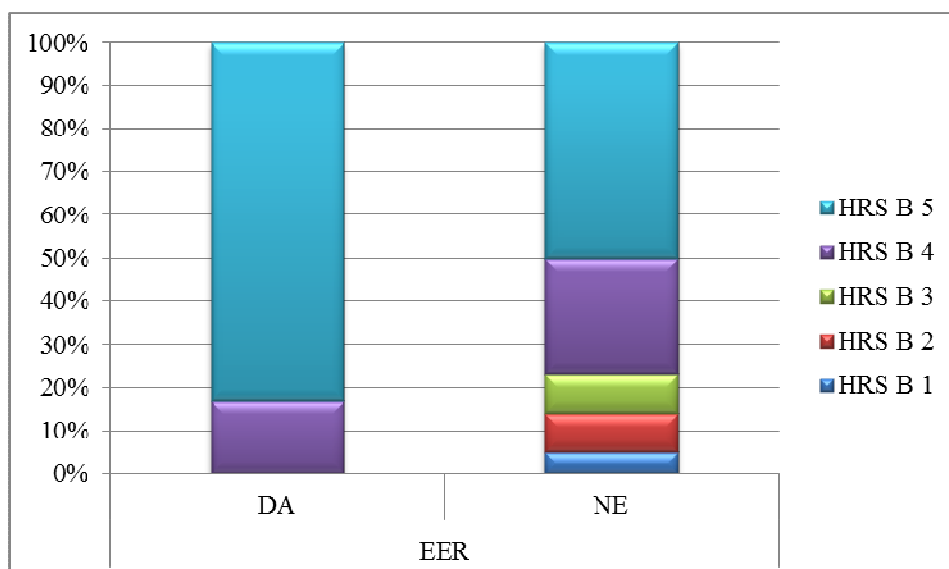


Slika 5.4.7. Učestalost EER među bolesnicima sa i bez komplikacija GP (chi kvadrat test,  $p > 0,05$ ).

Nije nađena statistički značajna korelacija između vrijednosti koncentracije pepsina u slini i kvalitete glasa bolesnika s GP mjerene HRS skalom. (Spearmannov rho, -0,058, 0,678, i -0,230,  $p > 0,05$ ), a uporaba i kvaliteta glasa mjerene HRS A i HRS B skalom nisu se statistički značajno razlikovale u bolesnika s EER i bez EER (slike 5.4.8. i 5.4.9.).



Slika 5.4.8. Uporaba glasa mjerena HRS A skalom u bolesnika s EER i bez EER.



Slika 5.4.9. Kvaliteta glasa mjerena HRS B skalom u bolesnika s EER i bez EER.

## 5.5. Komplikacije, kvaliteta glasa i vrijednost koncentracije pepsina nakon tri mjeseca terapije pantoprazolom

Nakon tromjesečne terapije pantoprazolom u dozi od 40 mg dnevno učestalost komplikacija govorne proteze se smanjila, ali ta razlika nije bila statistički značajna (tablica 5.5.1.), a relativni rizik za razvoj komplikacije za bolesnike koji nisu uzimali pantoprazol bio je 1,5 puta veći u odnosu na one koji su uzimali pantoprazol (OR 0,275, CI 0,059-1,282; chi kvadrat test,  $p=0,092$ ).

Tablica 5.5.1. Učestalost komplikacija GP nakon tri mjeseca terapije pantoprazolom

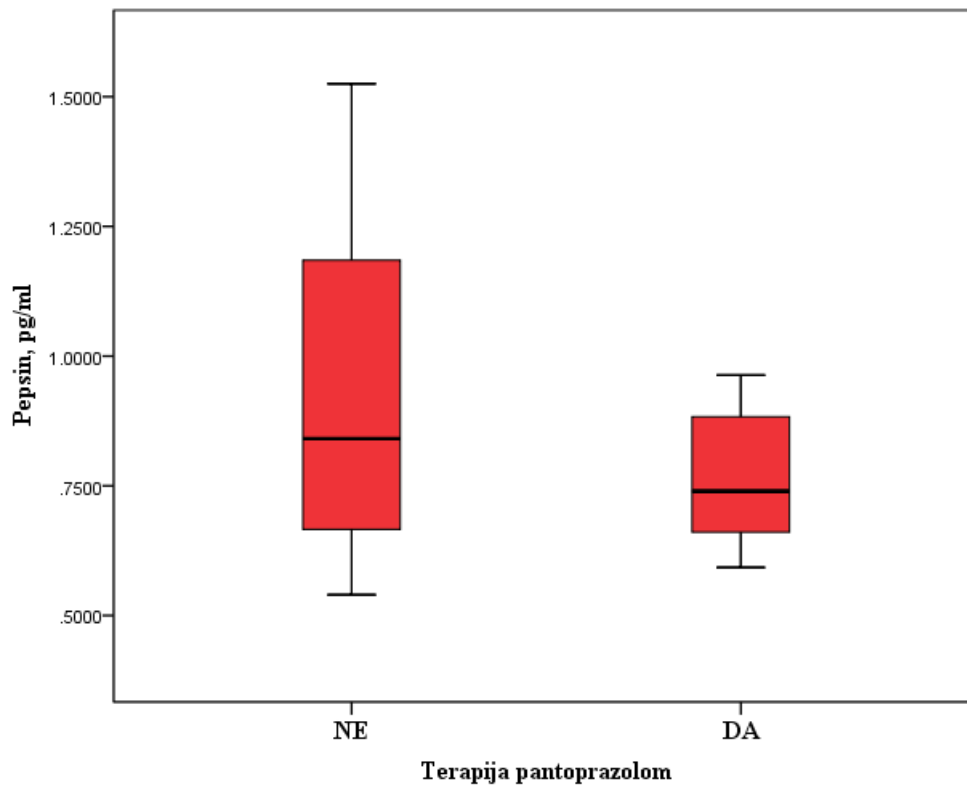
Terapija pantoprazolom tijekom 3 mjeseca	Bolesnici s komplikacijom GP pri prvom pregledu, N (%)		
	Komplikacije nakon 3 mjeseca	Bez komplikacije nakon 3 mjeseca	Ukupno
Da	7 (54)	6 (46)	13 (100)
Ne	17 (81)	4 (19)	21 (100)

Kvaliteta glasa nije se značajno razlikovala u bolesnika sa i bez terapije pantoprazolom nakon tri mjeseca (chi kvadrat test,  $p=0,548$ , tablica 5.5.2).

Tablica 5.5.2. Kvaliteta glasa nakon tri mjeseca terapije pantoprazolom

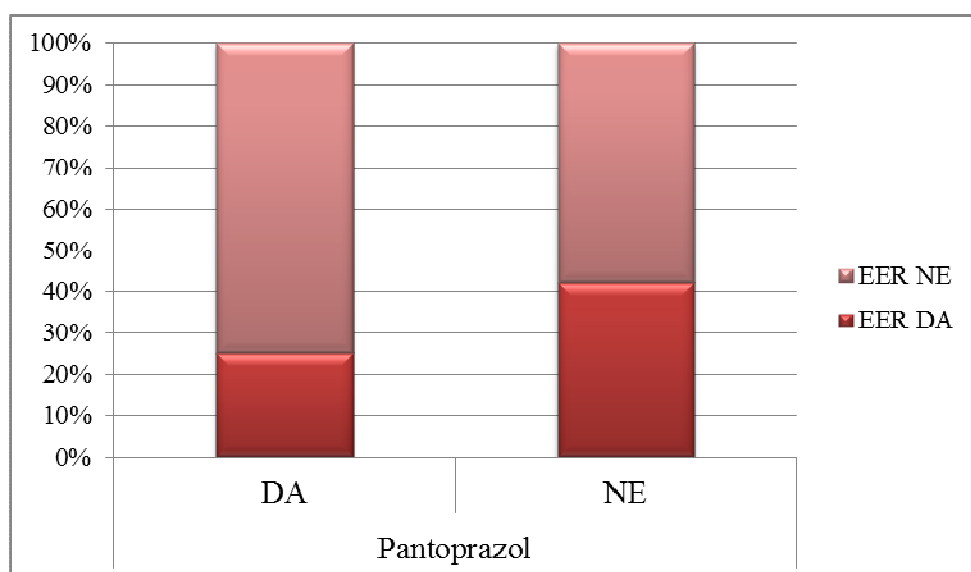
HRS skala	Terapija pantoprazolom 3 mjeseca		Bez terapije pantoprazolom		Ukupno	
	N (%)	Medijan	N (%)	Medijan	N (%)	Medijan
HRS A	1	1 (100)	0 (0)		1 (100)	
	2	1 (50)	1 (50)		2 (100)	
	3	1 (100)	0	4	1 (100)	4
	4	9 (35)		17 (65)	26 (100)	
	5	1 (25)		3 (75)	4 (100)	

Medijani vrijednosti koncentracije pepsina u slini nisu se značajno razlikovali među bolesnicima koji su uzimali terapiju pantoprazolom tri mjeseca i bolesnika bez terapije pantoprazolom (0,740 vs 0,841, Mann-Whitneyjev test,  $Z=-0,515$ ,  $p=0,606$ ) (slika 5.5.1).



Slika 5.5.1. Vrijednost koncentracije pepsina u slini bolesnika nakon 3 mjeseca terapije pantoprazolom

Također, udio bolesnika s EER, dijagnosticiranim mjerenjem pepsina u slini, nije se značajno razlikovao između bolesnika sa i bez terapije pantoprazolom nakon tri mjeseca (chi kvadrat test,  $p=0,444$ ; slika 5.5.2.).



Slika 5.5.2. Učestalost EER nakon tri mjeseca terapije pantoprazolom.



## 5.6. Komplikacije, kvaliteta glasa i vrijednost koncentracije pepsina nakon 6 mjeseci terapije pantoprazolom

Nakon šest mjeseci, učestalost komplikacija govorne proteze među bolesnicima koji su redovito uzimali pantoprazol nije se razlikovala od učestalosti komplikacija među bolesnicima bez terapije (tablica 5.6.1.). Relativni rizik za razvoj komplikacije za bolesnike koji nisu uzimali pantoprazol bio je gotovo jednak relativnom riziku bolesnika koji su uzimali pantoprazol (OR 0,857, CI 0,145 – 5,064; chi kvadrat test,  $p=0,074$ ).

Tablica 5.6.1. Učestalost komplikacija GP nakon šest mjeseci terapije pantoprazolom

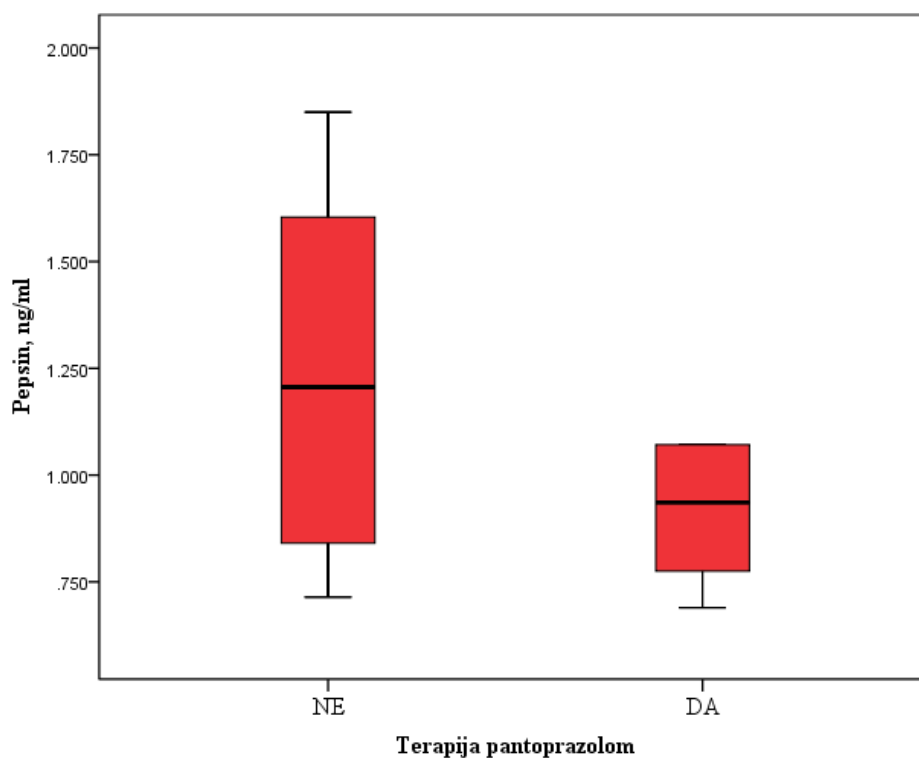
Terapija pantoprazolom tijekom 6 mjeseci	Bolesnici s komplikacijom GP pri prvom pregledu, N (%)		
	Komplikacije nakon 6 mjeseci	Bez komplikacije nakon 6 mjeseci	Ukupno
Da	7 (54)	6 (46)	13 (100)
Ne	11 (52)	10 (48)	21 (100)

Nakon šest mjeseci, kvaliteta glasa nije se razlikovala između bolesnika sa i bez terapije pantoprazolom (chi kvadrat test,  $p=0,489$ ; tablica 5.6.2).

Tablica 5.6.2. Kvaliteta glasa nakon šest mjeseci terapije pantoprazolom

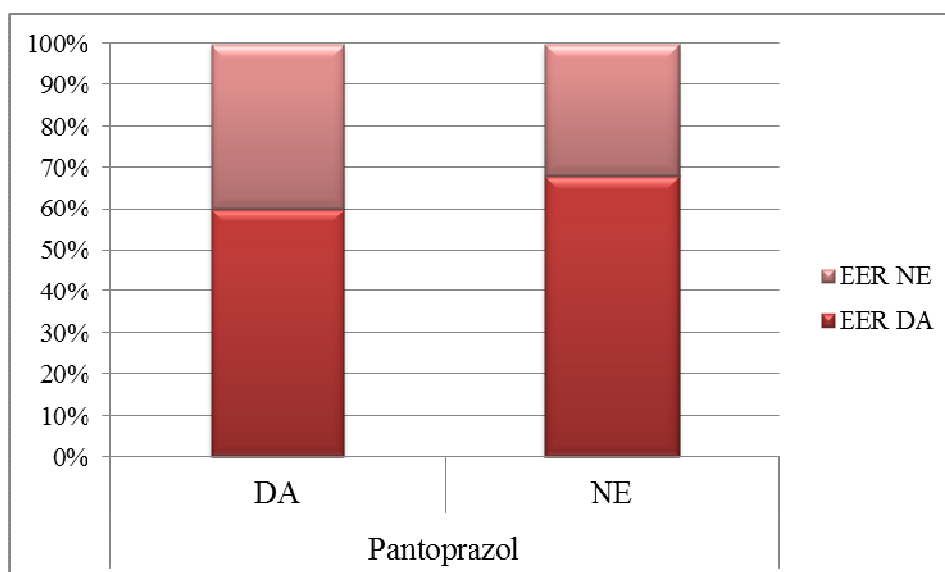
HRS skala		Terapija pantoprazolom 6 mjeseca		Bez terapije pantoprazolom		Ukupno	
		N (%)	Medijan	N (%)	Medijan	N (%)	Medijan
HRS A	1	0 (0)		0 (0)		0	
	2	0 (0)		0 (0)		0	
	3	3 (67)	4	1 (33)	4	4 (100)	4
	4	10 (34)		19 (66)		29 (100)	
	5	0 (0)		1 (100)		1 (100)	

Medijani vrijednosti koncentracije pepsina u slini nisu se značajno razlikovali između bolesnika koji nisu uzimali pantoprazol i bolesnika koji su uzimali terapiju pantoprazolom šest mjeseci (1,206 vs 0,936, Mann Whitneyjev test,  $Z=-1,025$ ,  $p=0,305$ ) (slika 5.6.1).



Slika 5.6.1. Vrijednost koncentracije pepsina u slini bolesnika nakon šest mjeseci terapije pantoprazolom

Također, broj bolesnika s EER, dijagnosticiranim mjerenjem pepsina u slini, nije se značajno razlikovao između bolesnika sa i bez šestomjesečne terapije pantoprazolom (chi kvadrat test,  $p=0,729$ ; slika 5.6.2).



Slika 5.6.2. Učestalost EER nakon šest mjeseci terapije pantoprazolom

## 6. RASPRAVA

### 6.1. Komplikacije govorne proteze

Postavljanje GP kroz TEF danas je zlatni standard u rehabilitaciji glasa i govora laringektomiranih bolesnika. Ovaj jednostavan kirurški postupak poznat je već 40 godina i u međuvremenu je proizveden niz GP s različitim dizajnom valvule koja omogućuje lako dobivanje glasa i sprečava aspiraciju sline, hrane i tekućine. Međutim i danas se u literaturi navodi varijabilan broj komplikacija, od 10% do 60%, vezanih za samu GP ili uz TEF (54, 68, 69), što ovisi o načinu dijagnosticiranja komplikacije GP. U ovom istraživanju 34 (57%) bolesnika imalo je jednu ili više komplikacija GP. Curenje kroz GP i curenje oko GP najčešće su komplikacije iako i njihova učestalost značajno varira među različitim istraživanjima (6%-40%). Najčešće komplikacije u ovom istraživanju su curenje kroz GP (45%) i curenje oko GP (40%), a zatim slijede stvaranje biofilma, odnosno kolonizacija GP kandidom te granulacije sluznice traheje (slika 5.2.1.). U ovom se istraživanju prvi put navodi i definira hipotrofija traheozofagealnog zida kao smanjenje traheozofagealnog zida za 4 mm ili 2 broja GP koja je prilikom prethodne promjene dobro brtvila TEF, a traheozofagealni zid nije tanji od 4 mm. U dosadašnjoj literaturi nitko nije opisao takvo djelomično smanjenje traheozofagealnog zida koje dovodi do curenja oko GP nego je takvo curenje oko GP obično pripisivano neadekvatnoj veličini GP, no pojam hipotrofije jasnije i točnije ukazuje na patologiju promjene te upozorava na mogućnost nastanka i težeg oblika komplikacije poput atrofije traheozofagealnog zida i povećanja dijametra TEF. U ovom istraživanju 20% bolesnika imalo je hipotrofiju TEF. Atrofija traheozofagealnog zida i blaže povećanje promjera fistule (debljina zida manja od 4 mm i promjer fistule veći od 8 mm) utvrđena je samo u jednog bolesnika, dok neki autori navode čak 48% bolesnika koji su imali curenje oko GP zbog atrofije traheozofagealnog zida i povećanja dijametra fistule (101). Pri tome su atrofiju definirali kao smanjenje traheozofagealnog zida za 60% normalne debljine zida (3,2 mm) ili kada se Provox II GP od 4,5 mm mogla pomicati naprijed-nazad za 1 mm u TEF. Pod povećanjem dijametra TEF smatrali su dijemetre veće od 9 mm.

Rizični čimbenici, navedeni u literaturi, koji utječu na razvoj komplikacija GP poput konzumacije alkohola, pušenja, šećerne bolesti bili su analizirani i u ovom istraživanju. Niti jedan od navedenih rizičnih čimbenika nije utjecao na povećanu učestalost komplikacija GP. Radioterapija se često u literaturi navodi kao jedan od najznačajnijih čimbenika rizika za razvoj komplikacija GP, prvenstveno atrofije traheozofagealnog zida i povećanja promjera

fistule (54, 93, 94, 98, 99). S obzirom na to da laringektomirani bolesnici s GP uglavnom imaju uznapredovale tumore glave i vrata, u značajanog broja bolesnika s GP provodi se radioterapija u postoperativnom razdoblju. I u ovom istraživanju je u većine (65%) bolesnika provedena radioterapija, no nije potvrđena povećana učestalost komplikacija GP u toj skupini bolesnika. Možda je to rezultat što je samo jedan bolesnik s atrofijom i povećanjem promjera TEF sudjelovao u istraživanju. No, ovaj rezultat potvrdilo je istraživanje i nekih drugih autora koji također nisu našli statistički značajnu povezanost komplikacija GP i radioterapije (68, 101, 219).

Analiziran je i utjecaj operativnih zahvata koji su izvedeni za vrijeme totalne laringektomije poput selektivne disekcije vrata, radikalne disekcije vrata, radikalne proširene disekcije vrata i miotomije. Ni u ovom istraživanju kao niti u literaturi nije nađena povezanost između disekcije vrata i komplikacije GP neovisno o opsegu disekcije (219). Miotomija je zahvat koji se primjenjuje za sprečavanje spazma krikofaringealnog mišića koji otežava ili onemogućuje prolaz zraka kroz faringoezofagealni segment i sprečava nastanak glasa ili dovodi do razvoja hipertoničnog glasa. Spazam faringoezofagealnog mišića uočen je tijekom rehabilitacije ezofagealnim govorom i prije razvoja GP, te je u literaturi opisano nekoliko modifikacija miotomije. U ovom istraživanju u 1/3 bolesnika bila je učinjena prednja kratka miotomija krikofaringealnog mišića. Miotomija prvenstveno utječe na kvalitetu glasa, odnosno na uspješnost govorne rehabilitacije, ali njezin utjecaj na komplikacije same GP i TEF slabo je istražen. De Carpentier i suradnici istražujući čimbenike koji utječu na životni vijek 80 GP u 31 bolesnika pokazali su da miotomija krikofaringealnog mišića nema statistički značajnog utjecaja na životni vijek GP (220). U ovom istraživanju u bolesnika bez miotomije dokazana je značajno veća učestalost curenja kroz GP. Uzrok tome može biti veći tlak zraka u proksimalnom segmentu jednjaka koji je potreban za dobivanje glasa u bolesnika bez miotomije a koji može postupno dovesti do bržeg oštećenja valvule GP.

Medijan vremena od formiranja TEF svih bolesnika bio je 24,5 mjeseci (raspon od 3 do 173 mjeseca). U 2/3 bolesnika TEF je formirana primarno za vrijeme totalne laringektomije, a u 1/3 sekundarno. Dosadašnja istraživanja proučavala su uglavnom utjecaj primarnog, odnosno sekundarnog formiranja TEF na kvalitetu glasa i uspješnost govorne rehabilitacije. Lukinović i suradnici u svom su retrospektivnom istraživanju 100 bolesnika s GP zaključili da nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti komplikacija i uspješnosti govorne rehabilitacije između bolesnika s primarno, odnosno sekundarno formiranom TEF (68). Boscolo-Rizzo i suradnici su dokazali da je primarno i sekundarno formiranje TEF

jednako uspješno i sigurno, te da je učestalost komplikacija GP bila nešto veća kod primarnog formiranja TEF ali to nije bilo statistički značajno (221). U ovom istraživanju dokazana je statistički značajno veća učestalost komplikacija u bolesnika sa sekundarno formiranom TEF. Ovakav rezultat mogao bi se objasniti činjenicom da svi bolesnici sa sekundarno formiranom TEF nisu imali miotomiju za koju smo prethodno dokazali da značajno utječe na razvoj komplikacija GP, posebno curenja kroz GP.

Medijan vremena od zadnje promjene GP bio je dva mjeseca (raspon od 1 do 14 mjeseci) i značajno se razlikovao među bolesnicima sa i bez komplikacija GP. Medijan vremena proteklog od zadnje promjene GP u bolesnika s komplikacijom GP iznosio je četiri mjeseca i bio je značajno duži u odnosu na medijan vremena od zadnje promjene GP bolesnika bez komplikacije koji je iznosio jedan mjesec. Ovaj rezultat potvrđuje prethodno objavljene rezultate o potrebi za redovitim kontrolama i promjenama GP svaka 3-4 mjeseca. Potreba za izmjenom GP najčešće se određivala vremenom trajanja GP. Životni vijek GP različito je mjeren u dosadašnjim istraživanjima i najčešće je bio izražen kao srednja vrijednost, no kako raspodjela rezultata trajanja GP uglavnom nije pravilna, točnije bi bilo izraziti vijek trajanja GP medijanom vremena. Medijan životnog vijeka GP u literaturi kreće se od 89 do 137 dana (54, 220, 222). Vrijeme od zadnje promjene GP značajno utječe na razvoj biofilma, odnosno kandidijazu GP, te je očekivano da će bolesnici s dužim vremenom od zadnje promjene GP imati češće prisutnu kandidijazu GP i u većoj količini koja će dovesti do curenja kroz GP. U ovom istraživanju potvrđeno je da su bolesnici s dužim vremenom od zadnje promjene GP imali češće prisutnu kandidijazu GP i curenje kroz i oko GP. Također je dokazano da 40% bolesnika s kandidijazom GP ima curenje kroz ili oko GP, dok bolesnici bez kandidijaze GP nemaju curenje oko niti kroz GP, čime je potvrđen značajan utjecaj biofilma na razvoj curenja kroz i oko GP.

## **6.2. Kvaliteta glasa bolesnika s GP mjerena HRS skalom**

U dosadašnjoj literaturi uspješnost rehabilitacije traheozofagealnog glasa s GP je vrlo dobra od 62% do 90% (66, 67, 38, 39). Razlike u rezultatima rehabilitacije najviše su posljedica različitih metoda mjerenja uspješnosti rehabilitacije. Većina autora analizirala je kvalitetu glasa različitim mjernim instrumentima poput perceptivne procjene glasa, akustičke i spektrografske analize glasa ili upitnicima samoprocjene glasa, dok su samo dva autora koristila HRS skalu za procjenu uspješnosti rehabilitacije traheozofagealnog glasa (66, 67).

U ovom istraživanju korištena je HRS skala jer se mjerila ne samo kvaliteta glasa nego i stupanj upotrebe traheozofagealnog glasa s GP i sposobnost bolesnika da se sam brine o GP, što je iznimno važno u svakodnevnoj kliničkoj praksi kao i svakodnevnom životu bolesnika. Iako detaljna analiza kvalitete glasa HRS skalom nije moguća i inferiorna je u odnosu na akustičke i spektrometrijske analize, ova skala daje dovoljno klinički relevantnih podataka o kvaliteti glasa koji utječu na sposobnost govorne komunikacije bolesnika a koji nisu ovisni o vrsti i veličini GP. U ovom istraživanju govorna rehabilitacija bila je uspješna u 2/3 bolesnika, što je slično rezultatima i u prethodna dva istraživanja. U Hrvatskoj se koriste samo GP koje mijenja liječnik te je najviša moguća ocjena o održavanju GP bila 4, a samo šest bolesnika koristi HME s automatskom valvulom tzv. *handsfree* te je u većine bolesnika najveća ocjena za stupanj korištenja bila 4. Cocuzza i suradnici su objavili da su među 20 bolesnika s lošijom kvalitetom traheozofagealnog glasa u 60% slučajeva našli znakove upale s elementima koncentrične hipertrofije rubova TEF u 50% slučajeva, curenje kroz GP koje je posljedica stvaranja biofilma pojavilo se u 25% bolesnika dok niti jedan bolesnik nije imao curenje oko GP (102). U ovom istraživanju bolesnici s hipotrofijom i curenjem oko GP imali su značajno lošiju kvalitetu glasa, kao i bolesnici s hipertonicitetom koji su i u značajno manjoj mjeri koristili traheozofagealni govor u svakodnevnoj komunikaciji.

### **6.3. Mjerenje koncentracije i prisutnost pepsina u slini ispitivanih skupina**

U ovom istraživanju prvi je put istražen utjecaj EER na komplikacije GP i uspješnost rehabilitacije traheozofagealnog govora s GP, određivanjem pepsina u slini laringektomiranih bolesnika. Određivanje koncentracije pepsina u slini dokazano je najosjetljiviji i najspecifičniji postupak u dijagnosticiranju EER, prvenstveno LPR (189). U dosadašnjem malom broju istraživanja o utjecaju EER na komplikacije GP koristili su se različiti dijagnostički postupci, 24-satna višekanalna pH-metrija, transnazalna ezofagoskopija, radiogramom s barijem ili fiberendoskopija hipofarinksa (99-102). Jedino su Bock J. M. i suradnici istraživali prisutnost pepsina, Western blot analizom, u bioptiranom materijalu sluznice TEF i aspiriranom sekretu u području TEF (218), ali nitko nije istraživao koncentraciju pepsina u lako dostupnoj slini bolesnika s GP. Postupak skupljanja uzoraka pljuvanjem je jednostavan, bezbolan, neagresivan i jeftin. Uzorci su sakupljeni samo jednom dnevno, ujutro na tašte, jer je prethodno istraživanje Wanga i suradnika koji su također koristili ELISA metodu za mjerenje koncentracije pepsina u slini bolesnika s LPR pokazalo da nije bilo razlike u koncentraciji pepsina u uzorcima sline prikupljenim ujutro i prije spavanja 56 ispitanika uključenih u istraživanje (223). Za mjerenje vrijednosti koncentracije

pepsina u slini korištena je ELISA metoda koja je visoko osjetljiva i specifična za dokazivanje pepsina ali zahtijeva rad u laboratoriju, osobu koja dobro poznaje metode laboratorijske dijagnostike, i relativno je skupa i dugotrajna. Donedavno, metode za određivanje pepsina u slini poput ELISA, *Western blot* ili imunokromatografskih testova bile su korištene samo u istraživačke svrhe. Godine 2011. plasiranjem na tržište brzog imunokromatografskog testa (*lateral flow*) Peptest<sup>TM</sup>, mjerenje koncentracije pepsina u slini postalo je dostupno u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Trenutačno Peptest<sup>TM</sup> još nije zastupljen na hrvatskom tržištu.

U ovom istraživanju rezultati analize vrijednosti koncentracije pepsina u slini, mjerenih ELISA metodom, pokazali su prisutnost pepsina u uzorcima sline svih ispitanika, i laringektomiranih bolesnika s GP i zdravih kontrolnih ispitanika. Bock i suradnici su dokazali prisutnost pepsina u 10 od 17 (58%) uzoraka tkiva sluznice TEF i 6 od 7 uzoraka aspirata oko TEF (218). Istraživanja koja su proučavala pepsin u slini bolesnika s LPR pokazala su vrlo varijabilne rezultate što je posljedica upotrebe različitih metoda s različitim stupnjem osjetljivosti i specifičnosti (189). Godine 1991. kad su Koufman JA i suradnici objavili obilježja EER, smatralo se da ne postoji fiziološki ERR (107). Međutim, s vremenom sve je više dokaza govorilo u prilog fiziološkom EER te do danas nisu jasno određeni kriteriji za razlikovanje patološkog od fiziološkog EER. Donedavno je zlatni standard u dijagnosticiranju EER bila višekanalna 24-satna pH-metrija i višekanalno mjerenje impendancije, no najveći nedostaci ovih metoda bili su upravo nejasni kriteriji za određivanje fiziološkog, odnosno patološkog refluksa. Mjerenje koncentracije pepsina u slini bolesnika s EER polako ali sigurno zauzima prvo mjesto u dijagnostici EER. Wang i suradnici koji su istraživali pepsin u bolesnika s LPR, kroničnim laringitisom i u zdravoj kontrolnoj skupini dokazali su prisutnost pepsina u slini u 93,8% bolesnika s LPR, u 75% bolesnika s kroničnim laringitisom te u 20% zdravih kontrolnih ispitanika (223). Oni su također koristili ELISA metodu za mjerenje vrijednosti koncentracije pepsina ali je donja granica detekcije i osjetljivost tog testa tada bila značajno slabija u odnosu na ELISA test koji je korišten u ovom istraživanju. Također, vrijednosti koncentracije pepsina izražene su u ng/ml a u ovom istraživanju u pg/ml. U pilot istraživanju, koje je prethodilo ovom istraživanju, dokazana je prisutnost pepsina u 73% laringektomiranih bolesnika s GP (224). U tom istraživanju korišten je isti ELISA kit kao i u ovom istraživanju, međutim u međuvremenu je proizvođač poboljšao test te spustio donju granicu detekcije i povećao osjetljivost testa, a rezultati koji su dobiveni umjesto u ng/ml sada su izraženi u pg/ml. Prisutnost pepsina u uzorcima sline svih ispitanika u ovom istraživanju a posebno zdravih ispitanika, kojima je detaljnom anamnezom i kliničkim pregledom

isključeno postojanje LPR te čimbenici koji mogu pridonijeti razvoju EER, potvrđuje teoriju postojanja fiziološkog EER. Tu teoriju također potvrđuje i Merati svojom meta-analizom radova koji su za dijagnosticiranje EER koristili višekanalnu pH metriju. U svim istraživanjima koja su bila uključena u meta-analizu, osim u jednom, zabilježen je različit broj refluksnih događaja u zdravih ispitanika ili zdravih kontrolnih ispitanika (109).

### **6.3.1. Odnos vrijednosti koncentracije pepsina između laringektomiranih bolesnika s GP i zdravih kontrolnih ispitanika**

Očekivana je značajno veća vrijednost koncentracije pepsina u slini laringektomiranih bolesnika u odnosu na kontrolne ispitanike s obzirom na dokazanu povećanu učestalost EER u laringektomiranih bolesnika u dosadašnjoj literaturi (208, 209). Veća učestalost EER u laringektomiranih bolesnika posljedica je narušenih anatomskih odnosa gornjeg dijela aerodigestivnog puta, oslabljene funkcije gornjeg sfinktera jednjaka i smanjenog motiliteta proksimalnog jednjaka (210-14). Veća vrijednost koncentracije pepsina u slini očekivana je u bolesnika koji su bili izloženi rizičnim čimbenicima za razvoj EER poput pušenja i alkohola. Zbog značajno većeg broja ispitanika koji redovito konzumiraju alkohol u skupini bolesnika u odnosu na skupinu kontrolnih ispitanika očekivana je veća vrijednost pepsina u laringektomiranih bolesnika u odnosu na kontrolne ispitanike. No medijan vrijednosti koncentracije pepsina u slini obje ispitivanih skupina nije se statistički značajno razlikovao. Također, niti unutar skupine bolesnika navedeni rizični čimbenici nisu značajno utjecali na vrijednost koncentracije pepsina u slini. Poznato je da razvoju EER u laringektomiranih bolesnika pridonosi i radioterapija kojoj je podvrgnuta većina ovih bolesnika jer se totalna laringektomija primjenjuje prvenstveno u bolesnika s uznapredovalim tumorima grkljana i ždrijela (T3 i T4) te je i u ovom istraživanju radioterapija provedena u 65% laringektomiranih bolesnika. Radioterapija značajno smanjuje klirens kiseline iz jednjaka jer narušava normalnu peristaltiku jednjaka i dovodi do oštećenja žlijezda slinovnica, s posljedičnom smanjenom proizvodnjom sline promijenjenog sastava (225). Također, očekivano je da bi miotomija krikofaringealnog mišića pridonijela razvoju EER. No vrijednost koncentracije pepsina nije se značajno razlikovala među bolesnicima sa i bez miotomije, odnosno provedene RT.

Većina dosadašnjih istraživanja dokazivala je prisutnost pepsina u različitim uzorcima: slini, iskašljaju, aspiratu traheje, izdahnutom kondenzatu, ali tek bi kvantifikacija pepsina najbolje korelirala s kliničkom slikom i omogućila razlikovanje patološkog od fiziološkog



EER. Wang i suradnici su koristili ROC krivulju u analizi vrijednosti koncentracije pepsina u slini LPR bolesnika i zdravih kontrolnih ispitanika za određivanje vrijednosti kojom će se razlikovati ove dvije skupine ispitanika te su vrijednosti koncentracije pepsina veće od 0,108 ng/ml smatrali „pepsin pozitivnim“ (223). I u ovom je istraživanju pomoću rezultata vrijednosti koncentracije kontrolnih zdravih ispitanika određena gornja normalna granica koncentracije pepsina u slini. Vrijednosti koncentracije pepsina zdravih kontrolnih ispitanika imale su normalnu raspodjelu te je izračunat raspon normalnih vrijednosti koncentracije pepsina u slini kao srednja vrijednost pepsina zdravih kontrolnih ispitanika  $\pm 3$  standardne devijacije čime je obuhvaćeno 95% rezultata zdravih kontrolnih ispitanika. Vrijednosti preko 0,884 pg/ml, 95 percentile, smatrane su povišenima, odnosno abnormalnima te je tako u svih bolesnika s vrijednostima pepsina iznad 0,884 pg/ml dijagnosticiran EER. Na taj je način u 1/4 laringektomiranih bolesnika s GP dijagnosticiran EER. Među skupinom bolesnika s dijagnosticiranim EER nije bilo značajno veće ili manje učestalosti ni jedne od relevantnih kliničkih značajki poput pušenja, konzumacije alkohola, učinjene miotomije ili provedene radioterapije.

### **6.3.2. Odnos vrijednosti koncentracije pepsina između bolesnika s komplikacijama GP ili bez njih**

Vrlo malo je poznato o učestalosti EER u bolesnika s GP i o njegovu utjecaju na komplikacije GP. Nekoliko dosadašnjih istraživanja tek je otvorilo problem utjecaja EER na komplikacije GP. Gotovo svi istraživači promatrali su utjecaj GER na komplikacije GP, osim Lorenza i suradnika koji su istraživali utjecaj supraezofagealnog refluksa.

Prvo istraživanje o utjecaju refluksa na GP objavili su Boscollo-Rizzo P. i suradnici 2008. Oni su retrospektivno istraživali utjecaj različitih kliničkih parametara na trajanje GP 106 bolesnika s GP koji su praćeni od 1 do 22 godine. Analizirali su broj promijenjenih proteza i srednju vrijednost vremena trajanja GP u odnosu na različite kliničke parametre uključujući i GERB. Dijagnozu GERB postavili su na osnovi nalaza erozivno-ulcerativnog ezofagitisa prilikom ezofagogastroduodenoskopije koja je obavljena prije totalne laringektomije u sklopu određivanja stadija tumorske bolesti. Našli su da je 209 GP izmijenjeno u bolesnika s GERB, a 307 u bolesnika bez GERB, te da je srednja vrijednost trajanja GP u bolesnika s GERB bila 126,5 dana a u bolesnika bez GERB 215.7 dana. Univarijatnom i multivarijatnom analizom dokazali su značajan utjecaj GERB na skraćanje

trajanja GP. Veliki je nedostatak njihova istraživanja bilo postavljanje dijagnoze GERB prije laringektomije, no autori smatraju da se dobiveni rezultati mogu ekstrapolirati i na postoperativno razdoblje s obzirom na kronicitet i relapsirajući karakter GERB (99).

Nakon njih su Pattani i suradnici retrospektivnom analizom podataka u 22 bolesnika s GP koji su bili afonični dokazali poboljšanje glasa u 17 (77%) bolesnika i potpuni nestanak granulacijskog tkiva sluznice dušnika svih 9 bolesnika s granulacijama nakon empirijske terapije IPP 40 mg 2 puta dnevno kroz 2-3 mjeseca. Nedostaci ovog istraživanja su mali broj bolesnika te objektivno dijagnosticiran refluks 24-satnom pH-metrijom u samo pet bolesnika dok je u ostalih refluks dijagnosticiran isključivanjem ostalih uzroka koji mogu dovesti do otežanog dobivanja traheozofagealnog glasa (100).

Lorentz K. J. i suradnici su u prospektivnom istraživanju ispitali ulogu supraezofagealnog refluksa u razvoju komplikacija TEF u 60 laringektomiranih bolesnika. Svim bolesnicima učinjena je 24-satna višekanalna pH-metrija s proksimalnim senzorom u proksimalnom jednjaku, odnosno u visini GP. Određen je ukupni broj refluksnih događaja s padom pH ispod 4 u distalnom i proksimalnom dijelu jednjaka, RAI bodovanje za pH manji od 4 i De Meester bodovanje. Vrijednosti od 6 i manje refluksnih događaja, RAI zbroj manji od 6.3 i De Meester zbroj manji od 14.75 smatrani su normalnima. Među 60 laringektomiranih bolesnika s GP našli su 29 (48%) bolesnika s curenjem oko GP koje je posljedica atrofije traheozofagealnog zida i povećanja dijametra TEF i 12 (20%) bolesnika s granulacijama sluznice dušnika. Analizom dobivenih rezultata autori su zaključili da bolesnici s težim stupnjem refluksa imaju više komplikacija TEF, curenja oko GP i granulacija te da svi bolesnici sa značajnim povećanjem dijametra fistule, preko 9 mm, imaju patološki refluks. Također, dokazali su da je životni vijek GP značajno kraći u bolesnika s refluksom. Autori su metodološki vrlo dobro postavili istraživanje te donijeli vrlo zanimljive zaključke, međutim vidljiva je nedosljednost u apsolutnim brojevima ispitanih skupina i netočnost podataka u pojedinim tablicama te se nameće pitanje istinitosti navedenih podataka i valjanosti dobivenih rezultata i donesenih zaključaka (101).

Govorna proteza nalazi se u proksimalnom jednjaku i na nju prvenstveno utječe supraezofagealni refluks. S obzirom na značajno oslabljenu funkciju gornjeg sfinktera jednjaka u laringektomiranih bolesnika s GP, supraezofagealni refluks može vrlo lako prijeći u EER te smatramo da bi jednostavnim metodom određivanja vrijednosti koncentracije pepsina u slini dobili pouzdane rezultate o prisutnosti EER, odnosno supraezofagealnog

refluksa u laringektomiranih bolesnika s GP. Očekivano je da će vrijednosti koncentracije pepsina u slini biti veće u bolesnika s komplikacijom GP u odnosu na bolesnike bez komplikacija GP. Međutim, medijani vrijednosti pepsina u slini bolesnika sa i bez komplikacija GP nisu se statistički značajno razlikovali. Također, nije nađena ni značajno veća učestalost EER među bolesnicima s komplikacijama GP u odnosu na bolesnike bez komplikacija GP.

TEF je direktan put između jednjaka i dušnika te će reflusati utjecati i na sluznicu jednjaka i na sluznicu dušnika. S obzirom na to da jednjak ima dobru prirodnu barijeru prema reflusatu, tek dugotrajna izloženost većoj količini želučanog sadržaja može dovesti do oštećenja sluznice jednjaka. Za razliku od prethodnog, vrlo mala količina reflusata koja prođe oko ili kroz GP dovoljna je da izazove znatna oštećenja sluznice dušnika, poput granulacija ili atrofije, čime se može objasniti značajno veća učestalost granulacija sluznice traheje u odnosu na hipertrofiju sluznice jednjaka u bolesnika s GP. U svim prethodnim istraživanjima utvrđena je povezanost refluksa i granulacija sluznice dušnika, atrofije i povećanja dijametra TEF. U ovom istraživanju granulacije sluznice dušnika treća su po učestalosti komplikacija, no nije dokazana povećana učestalost EER među bolesnicima s granulacijama sluznice dušnika niti su njihove vrijednosti koncentracije pepsina u slini bile više u odnosu na druge bolesnike. O utjecaju EER na atrofiju traheozofagealnog zida i povećanje dijametra fistule nisu se mogli donijeti valjani zaključci jer je u ovom istraživanju sudjelovao samo jedan bolesnik s atrofijom traheozofagealnog zida i povećanjem dijametra fistule.

Medijan vrijednosti koncentracije pepsina nije se značajno razlikovao niti među bolesnicima s drugim komplikacijama GP, osim u bolesnika s kandidijazom GP. Bolesnici s kandidijazom GP pri uključivanju u istraživanje imali su medijan vrijednosti koncentracije pepsina značajno niži u odnosu na bolesnike bez kandidijaze. Međutim, isključivanjem vremena od zadnje promjene GP koje značajno utječe na pojavu kandidijaze analizom podataka linearnom regresijom dokazana je značajna pozitivna korelacija kandidijaze i pepsina. Također je i analizom podataka bolesnika pri prvom kontrolnom pregledu nakon tri mjeseca dokazana pozitivna korelacija kandidijaze i pepsina, odnosno bolesnici s kandidijazom GP su imali više vrijednosti koncentracije pepsina u slini, ali ta razlika nije bila statistički značajna. Ovaj rezultat odgovara i nedavno objavljenim rezultatima istraživanja Choi L. i suradnika koji su dokazali da su značajni rizični čimbenici za razvoj ezofagealne kandidijaze: nedavna upotreba antibiotika, biljnih preparata, kortikosteroida i teži oblik

alkoholizma dok je refluksni ezofagitis bio najčešći endoskopski nalaz uz ezofagealnu kandidijazu, no nije se mogla dokazati statistički značajna povezanost, također niti upotreba IPP nije bila značajno povezana s kandidijazom jednjaka (226). Suprotno prethodnom rezultatu, Lorenz K. i suradnici nisu našli razlike u formiranju biofilma i kolonizaciji GP kandidom u bolesnika s refluksom i bez njega (107).

### **6.3.3. Odnos vrijednosti koncentracije pepsina i kvalitete glasa bolesnika s GP mjerene HRS skalom**

U dosadašnjoj literaturi objavljeno je samo šest istraživanja o utjecaju refluksa na kvalitetu glasa bolesnika s GP. Od toga su samo tri autora istražila prisutnost refluksa u bolesnika s lošijom kvalitetom glasa različitim metodama, dok su ostali istraživači promatrali utjecaj antirefluksne terapije na pojavu komplikacija i kvalitetu glasa.

Pattani K. M. i suradnici su u 9 od 22 bolesnika s GP i afonijom dokazali refluks koristeći fleksibilnu endoskopiju neofarinksa, radiološku analizu akta gutanja s barijevim kontrastom, 24-satnu pH-metriju i transnazalnu ezofagoskopiju (100). Veliki nedostatak ovog istraživanja je što su na malom broju bolesnika koristili različite dijagnostičke metode i neujednačene kriterije za određivanje refluksa, te nije poznat točan broj bolesnika u kojih je pojedina metoda primijenjena. Cocuzza S. i suradnici su među 20 bolesnika s nezadovoljavajućim rezultatima analize glasa zabilježili 13 (65%) slučajeva s GERB dijagnosticiranim ezofagogastroduodenoskopijom (102). U ovom istraživanju nije jasno navedena metoda kojom se analizirala kvaliteta glasa niti kriterij za određivanje loše kvalitete traheozofagealnog glasa. Rezultati obaju prethodnih istraživanja teško su usporedivi zbog nejasnih i nedosljednih dijagnostičkih metoda i kriterija. Lorenz K. i suradnici su u 60 bolesnika s GP proveli 24-satnu višekanalnu pH-metriju i odredili kvalitetu glasa „voice handicap indexom 10“ (VHI10) (227). Objavili su da bolesnici s fiziološkim refluksom imaju srednju vrijednost VHI10 46.4 ( $\pm 11.4$ ). Srednja vrijednost rezultata VHI rasla je do 64.1 ( $\pm 9.6$ ) kako je rasla težina refluksa ( $p=0.025$ ), što su autori povezali i s većom pojavom curenja oko GP i edema faringozofagealnog segmenta. U ovom istraživanju nije nađena statistički značajna povezanost između vrijednosti koncentracije pepsina u slini i kvalitete glasa bolesnika s GP.

#### **6.4. Komplikacije, kvaliteta glasa i vrijednost pepsina nakon tri i šest mjeseci terapije pantoprazolom**

Gotovo svi istraživači koji su proučavali utjecaj refluksa na komplikacije GP i uspješnost rehabilitacije istraživali su i utjecaj antirefluksne terapije. Pattani i suradnici su objavili da je 15 (68%) od 22 bolesnika s afonijom nakon empirijske antirefluksne terapije dobilo glas, te da je u svih devet bolesnika s granulacijama sluznice dušnika, nakon terapije došlo do nestanka granulacijskog tkiva (100). Antirefluksna terapija sastojala se od IPP u maksimalnoj odobrenoj dnevnoj dozi kroz dva do tri mjeseca. Cocuzza i suradnici su u 43 bolesnika primijenili maksimalnu dozu IPP dva puta na dan kroz dva mjeseca, te dozu održavanja kroz jedan mjesec, te su u terapiju dodali maksimalnu dozu alginata, tri puta dnevno, i upute o prehrani (102). Oni su u 21 (49%) bolesnika s GERB nakon terapije našli nestanak ili značajno smanjenje granulacija u pet bolesnika, značajno poboljšanje kvalitete glasa u 12 bolesnika te poboljšanje životnog vijeka GP u 4 bolesnika. U drugoj skupini 22 bolesnika bez GERB također su primijenili prethodno navedenu terapiju ali su značajnije promjene zabilježili samo u dva bolesnika. Lorenz K. i suradnici su u 60 laringektomiranih bolesnika s GP 24-satnom višekanalnom pH-metrijom dijagnosticirali supraezofagealni refluks te su dokazali značajno smanjenje refluksa nakon šest mjeseci rigorozne terapije IPP, te značajno smanjenje pojavnosti curenja oko GP i atrofije TEF (228). Također su utvrdili poboljšanje kvalitete glasa (VHI) i kvalitete života nakon šest mjeseci rigorozne terapije IPP (227), te su preporučili profilaktičku terapiju IPP u svih bolesnika s curenjem oko GP i atrofijom TEF te u svih laringektomiranih bolesnika dijagnostičku obradu refluksa. No, autori u oba rada nisu naveli točnu dozu IPP terapije niti jesu li kroz svih šest mjeseci primjenjivali istu terapiju u istoj dozi. Dok je većina autora istraživala utjecaj medikamentne terapije, Jobe i suradnici su objavili da fundoplikacija smanjuje žgaravicu i regurgitaciju koja dovodi do erozija GP ali ne utječe na kvalitetu traheozofagealnog glasa (229).

U ovom istraživanju primijenjena je terapija pantoprazolom, IPP, u dozi od 1 x 40 mg ujutro kroz šest mjeseci. 40 mg pantoprazola jednom dnevno preporučena je doza u liječenju srednje teškog i teškog refluksnog ezofagitisa. Iz prethodnih istraživanja nije jasno vidljivo koju vrstu IPP terapije su istraživači primijenili, niti u kojoj dozi i je li u svih bolesnika primijenjena ista terapija. Nakon tri i šest mjeseci terapije pantoprazolom učestalost komplikacija GP se smanjila ali ta razlika nije bila statistički značajna. Razlog tomu može biti činjenica da refluks prvenstveno utječe na atrofiju traheozofagealnog zida i povećanje dijametra TEF, a u ovom istraživanju sudjelovao je samo jedan bolesnik s atrofijom i

povećanjem dijametra. Također, niti pojedine vrste komplikacija GP nisu imale statistički značajno manju učestalost nakon terapije, iako je u prethodnim istraživanjima dokazano smanjenje granulacija sluznice dušnika nakon antirefluksne terapije. Na ovaj rezultat moglo je utjecati i devet bolesnika kojima je dana IPP terapija prilikom uključivanja u istraživanje ali su isključeni iz istraživanja jer nisu došli na kontrolu nakon tri, odnosno šest mjeseci. Moguće je da ti bolesnici više nisu imali problema s GP te zato nisu došli na kontrolu ali bi njihov klinički status i vrijednosti pepsina značajno pridonijele pozitivnom utjecaju terapije IPP na smanjenje komplikacija GP.

Iako je jedan od ciljeva ovog istraživanja bio dokazati utjecaj antirefluksne terapije na uspješnost rehabilitacije, već nakon prvog dijela istraživanja bilo je jasno da IPP terapija neće značajnije utjecati na kvalitetu glasa jer se kvaliteta glasa nije značajnije razlikovala među bolesnicima sa i bez komplikacija GP osim u bolesnika s hipotrofijom i curenjem oko GP te bolesnicima s hipertonicitetom. Kvaliteta glasa nije se značajno razlikovala u bolesnika sa i bez terapije pantoprazolom ni nakon tri niti nakon šest mjeseci.

Također, iako je bila očekivana značajno manja vrijednost pepsina i učestalost EER u bolesnika na terapiji pantoprazolom, učestalost EER je bila manja u bolesnika s terapijom no ta razlika nije bila statistički značajna niti nakon tri niti nakon šest mjeseci.

## **6.5. Ograničenja istraživanja i prijedlozi budućih istraživanja**

Veličina uzorka bila je ograničena brojem laringektomiranih bolesnika s GP u cijeloj Republici Hrvatskoj te je istraživanje provedeno u pet klinika i odjela za bolesti uha nosa i grla i kirurgiju glave i vrata kako bi se prikupio odgovarajući broj ispitanika. Također, na veličinu uzorka ispitanika utjecali su i strogi isključujući kriteriji kako bi se dobila što ujednačenija skupina bolesnika i zdravih kontrolnih ispitanika čiji su rezultati vjerodostojni i mogu se međusobno uspoređivati. Ukupan broj laringektomiranih bolesnika s GP koji je sudjelovao u ovom istraživanju bio je dovoljno velik međutim podjelom bolesnika na one sa i one bez komplikacija GP te na pojedine vrste komplikacija nije se u svakoj skupini dobio dovoljan uzorak. Najveći problem bili su bolesnici s atrofijom traheozofagealnog zida i povećanjem dijametra fistule jer je u ovo istraživanje bio uključen samo jedan takav bolesnik a dosadašnja istraživanja pokazala su prvenstveno utjecaj EER na tu vrstu komplikacija GP. Buduća istraživanja trebala bi obuhvatiti značajno veći broj bolesnika s atrofijom traheozofagealnog zida i povećanjem dijametra TEF kako bi se rezultati utjecaja EER

mjerenjem pepsina u slini bolesnika i rezultati prethodnog istraživanja utjecaja EER mjerenog 24-satnom pH-metrijom mogli usporediti. Također, zbog veličine uzorka u toj skupini bolesnika nije se mogao ispitati ni utjecaj IPP terapije.

Dijagnosticiranje EER mjerenjem vrijednosti koncentracije pepsina u slini je za bolesnika značajno jednostavnija i neinvazivna metoda u odnosu na sve dosadašnje metode, no analiza uzoraka sline ELISA metodom relativno je skupa, dugotrajna, te zahtijeva rad u laboratoriju posebno educirane osobe. Upotrebom odnedavno na tržištu dostupnog brzog i jeftinog „lateral flow“ testa za mjerenje vrijednosti koncentracije pepsina dijagnosticiranje EER postaje jednostavna, brza, jeftina i dostupna metoda u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

U ovom istraživanju nismo dokazali značajan pozitivan učinak IPP na učestalost komplikacija iako je primijećeno smanjenje komplikacija nakon IPP terapije. Ovakav rezultat može biti i posljedica isključivanja devet bolesnika na IPP terapiji koji nisu došli na kontrolne preglede jer je velika vjerojatnost da ti bolesnici više nisu imali problema s GP te zato nisu došli na kontrolu, a njihov klinički status i vrijednosti pepsina značajno bi pridonijeli pozitivnom utjecaju terapije IPP na smanjenje komplikacija GP.

## 7. ZAKLJUČAK

Ovo istraživanje značajno pridonosi razvoju metoda dijagnosticiranja EER jer potvrđuje teoriju o postojanju fiziološkog EER s obzirom na to da je u uzorcima sline svih ispitanika dokazan pepsin. Iako u ispitivanoj skupini nije nađena značajna razlika u vrijednostima koncentracije pepsina u slini između zdravih ispitanika i bolesnika s GP, pomoću vrijednosti koncentracije pepsina zdravih kontrolnih ispitanika određena je gornja referentna vrijednost za fiziološki EER te je u bolesnika s GP dijagnosticiran patološki EER.

Iako su u prethodnim istraživanjima i RT i EER navedeni kao rizični čimbenici za razvoj komplikacija GP, ovim istraživanjem dokazano je da ni RT ni EER ne utječu značajno na učestalost svih komplikacija GP, te se zbog malog broja ispitanika s atrofijom traheozofagealnog zida i povećanjem dijametra TEF nije mogao ispitati njihov utjecaj na ovu vrstu komplikacija. Stoga bi buduća istraživanja trebala uključivati značajno veći broj bolesnika s ovom vrstom komplikacija kako bi rezultati bili usporedivi s prethodnim istraživanjima.

Ovim istraživanjem dokazana je visoka uspješnost govorne rehabilitacije traheozofagealnim govorom s GP čime je još jednom potvrđeno da je traheozofagealni govor s GP zlatni standard u rehabilitaciji alaringealnog glasa, no nije potvrđen značajan utjecaj EER na kvalitetu glasa i uspješnost rehabilitacije govora.

Također, značajan je doprinos ovog istraživanja na terapijske protokole s obzirom na današnju sve češću primjenu antirefluksne terapije, posebno IPP, u liječenju komplikacija GP. U ovom istraživanju nije nađena značajno manja učestalost komplikacija GP, kao niti poboljšanje kvalitete glasa ili smanjenje vrijednosti koncentracije pepsina nakon šest mjeseci IPP terapije. Iz toga se može zaključiti da nije potrebno provoditi profilaktičku antirefluksnu terapiju u svih bolesnika s komplikacijama GP.

Rezultati ovog istraživanja pridonose razvoju boljih dijagnostičkih i terapijskih protokola u svrhu poboljšanja kvalitete života laringektomiranih bolesnika s GP, te smanjenja troškova liječenja.



## **8. SAŽETAK**

### **Utjecaj ekstraesofagealnog refluksa na učestalost komplikacija i kvalitetu glasa bolesnika s govornom protezom**

#### **Uvod i cilj istraživanja**

Traheoesofagealni govor pomoću GP danas je zlatni standard u govornoj rehabilitaciji laringektomiranih bolesnika. Međutim, kvalitetu glasa kao i kvalitetu života značajno narušavaju komplikacije GP koje mogu biti posljedica pojedinih kirurških postupaka tijekom laringektomije i formiranja TEF ili su vezane uz TEF i samu GP. Nekoliko je rizičnih čimbenika koji pridonose razvoju komplikacija GP, a posljednjih pet godina mali broj studija proučavalo je utjecaj EER na komplikacije GP, prvenstveno atrofiju traheoesofagealnog zida, povećanje dijametra TEF i granulacije sluznice dušnika, te na kvalitetu glasa laringektomiranih bolesnika. Iako je donedavno zlatni standard u dijagnosticiranju EER bila višekanalna 24-satna pH-metrija, dokazano je da je pepsin najosjetljiviji i specifičniji marker EER, a mjerenje koncentracije pepsina u slini pouzdana, jeftina, jednostavna i neinvazivna metoda.

#### **Ispitanici i metode**

U istraživanje je uključeno 60 laringektomiranih bolesnika s GP i 30 kontrolnih zdravih ispitanika kojima su određene vrijednosti koncentracije pepsina u uzorcima sline ELISA metodom. Svakom bolesniku kliničkim je pregledom utvrđeno postojanje komplikacije GP i određena uspješnost govorne rehabilitacije Harrison-Robillard-Schultzovom skalom (HRS). U bolesnika s komplikacijama GP randomizirano je provedena terapija pantoprazolom u dozi od 40 mg ujutro kroz šest mjeseci. Za statističku analizu upotrijebljen je Mann-Whitneyjev test, Studentov t-test, Spearmannov test korelacije, chi kvadrat test i linearna regresijska analiza. Razina značajnosti P podešena je na 0.05.

#### **Rezultati**

U ovom istraživanju prvi je put istražen utjecaj EER na komplikacije GP i kvalitetu glasa određivanjem vrijednosti koncentracije pepsina u slini. U svim uzorcima sline svih ispitanika, i laringektomiranih bolesnika i zdravih kontrolnih ispitanika, dokazana je prisutnost pepsina. Pomoću rezultata vrijednosti koncentracije kontrolnih zdravih ispitanika koje su imale normalnu raspodjelu izračunat je raspon normalnih vrijednosti koncentracije pepsina u slini kao srednja vrijednost pepsina zdravih kontrolnih ispitanika  $\pm 3$  standardne

devijacije, čime je obuhvaćeno 95% rezultata zdravih kontrolnih ispitanika. Vrijednosti preko 0,884 pg/ml, 95 percentile, smatrane su povišenima, odnosno abnormalnima te je tako u svih bolesnika s vrijednostima pepsina iznad 0,884 pg/ml dijagnosticiran EER. Na taj je način u 1/4 laringektomiranih bolesnika s GP dijagnosticiran EER. Medijani vrijednosti koncentracije pepsina nisu se razlikovali između laringektomiranih bolesnika i zdravih kontrolnih ispitanika. Također, medijani vrijednosti koncentracije pepsina i učestalost EER nisu se značajno razlikovali između bolesnika sa i bez komplikacije GP, kao niti među bolesnicima s različitim vrstama komplikacija GP, iako su bolesnici s formiranim biofilmom na GP, odnosno kandidijazom GP imali više vrijednosti pepsina ali ta razlika nije bila statistički značajna. Utjecaj EER na atrofiju traheozofagealnog zida i povećanje promjera TEF u ovom istraživanju nije se mogao istražiti jer je u istraživanje bio uključen samo jedan bolesnik s ovom vrstom komplikacije GP. U ovom istraživanju dokazana je visoka uspješnost govorne rehabilitacije no nije nađena statistički značajna povezanost između vrijednosti koncentracije pepsina u slini i kvalitete glasa bolesnika s GP. Učestalost komplikacija govorne proteze, analiza kvalitete glasa i vrijednost koncentracije pepsina uspoređene su i među bolesnicima u kojih je i u kojih nije provedena RT, te nije nađen značajan utjecaj RT na učestalost niti vrstu komplikacija GP, kvalitetu glasa niti na vrijednost koncentracije pepsina. Iako je nađena manja učestalost komplikacija GP nakon tri i šest mjeseci terapije pantoprazolom, ta razlika nije bila statistički značajna. Također nije dokazano ni značajano poboljšanje kvalitete glasa ni smanjenje vrijednosti koncentracije pepsina nakon terapije.

## **Zaključak**

Ovim istraživanjem dokazano je da EER, dijagnosticiran jednostavnom i neinvazivnom metodom određivanja vrijednosti koncentracije pepsina u slini, ne utječe značajno na učestalost svih komplikacija GP, te da nije potrebno provoditi profilaktičku terapiju IPP u svih bolesnika s komplikacijama govorne proteze. S obzirom na to da je u ovom istraživanju sudjelovao samo jedan bolesnik s atrofijom traheozofagealnog zida i povećanjem promjera TEF, buduća istraživanja trebala bi uključivati veći broj bolesnika s ovim vrstama komplikacija GP kako bi dobiveni rezultati bili usporedivi s većinom prethodno objavljenih istraživanja.

**Ključne riječi:** totalna laringektomija, govorna proteza, ekstraesofagealni refluks, pepsin

## **9. SUMMARY**

### **Influence of extraesophageal reflux on the occurrence of voice prosthesis complications and voice quality after total laryngectomy and voice prosthesis implantation**

**Ana Đanić Hadžibegović, 2013.**

#### **Introduction and aim**

Tracheoesophageal speech with voice prosthesis (VP) is the gold standard in speech rehabilitation of laryngectomized patients. However, the voice quality and quality of life may be notably impaired by VP complications that may be related to certain surgical procedures during laryngectomy and the formation of tracheoesophageal fistula (TEF) or related to the TEF and the VP itself. There are several risk factors that contribute to the development of VP complications. In the last five years a small number of studies have examined the impact of extraesophageal reflux (EER) on several VP complications: tracheoesophageal wall atrophy, increasing diameter of TEF, and tracheal granulation and on the voice quality in laryngectomized patients. Until recently, multichannel 24-hour pH - metry was the gold standard in the diagnosis of EER. However, several studies identified pepsin as a sensitive and specific marker of EER, and showed that measurement of concentration of pepsin in saliva was a reliable, cheap, simple and non-invasive method to diagnose EER.

#### **Patients and methods**

The study included 60 laryngectomees with VP and 30 healthy control subjects in whom concentrations of pepsin in saliva samples were analyzed with ELISA method. Clinical examination in the studied group evaluated the presence of VP complications and speech rehabilitation performance score with Harrison-Robillard-Schultz scale (HRS). Patients with VP complications were randomized in two groups: therapy with pantoprazole at a dose of 40 mg in the morning for 6 months or no medication. Statistical analysis was performed using Mann - Whitney test, Student's t-test, Spearman's correlation test, chi square test and linear regression analysis. Significance level P was set to 0.05.

#### **Results**

This study is the first to show the effect of EER on VP complications and voice quality by measuring the concentration of pepsin in saliva. Saliva samples of all subjects, laryngectomees and healthy controls, demonstrated the presence of pepsin. Using the results of normally distributed pepsin concentration values of control healthy subjects, normal range

of pepsin concentrations in saliva were determined as: mean pepsin concentration in healthy controls  $\pm$  3 standard deviations, which covered 95% of all healthy controls. Values above 0.884 pg/ml, (within 95<sup>th</sup> percentile) were considered increased or abnormal. Finally, in all patients with pepsin values above 0.884 pg/ml EER was diagnosed. Using this method, in 25% of laryngectomized patients with VP EER was diagnosed.

Median pepsin concentrations did not differ significantly between laryngectomized patients and controls. Also, median concentrations of pepsin and frequency of EER did not differ significantly between patients with and without VP complications, nor among patients with different types of VP complications. However, patients with biofilm formed on the GP or GP candidiasis had higher values of pepsin, but this difference was not statistically significant. Impact of EER on tracheoesophageal wall atrophy and TEF diameter increase could not be investigated in this study because there was only one patient with this kind of VP complication.

This study demonstrated a high performance of speech rehabilitation but did not find any significant correlation between the concentration of pepsin in saliva and voice quality in patients with VP. Incidence of VP complications, analysis of voice quality and concentration of pepsin in saliva did not differ significantly among patients regarding radiotherapy. Although the incidence of VP complications after 3 and 6 months of treatment with pantoprazole was lower, this difference was not statistically significant. In addition, pantoprazole therapy did not significantly reduce pepsin in saliva, or show any significant improvement of voice quality.

## **Conclusion**

This study demonstrated that EER, diagnosed non-invasively by concentration of pepsin in saliva, did not significantly affect the incidence of VP complications. Therefore, there are no data to support prophylactic proton pump inhibitor therapy in all patients with VP complications. Given that this study involved only one patient with tracheoesophageal wall atrophy and increasing TEF diameter, future research should include a larger number of patients with these kinds of VP complications in order to obtain results comparable with majority of previously published studies.

**Keywords: total laryngectomy, voice prosthesis, extraesophageal reflux, pepsin**

## 10. LITERATURA

1. McNeil BJ, Weichselbaum R, Pauker SG. Speech and survival: tradeoffs between quality and quantity of life in laryngeal cancer. *N Eng J Med* 1981;305:982-7.
2. Prgomet D. Zloćudni tumori grkljana. U: Katić V, Prgomet D i sur. Otorinolaringologija i kirurgija glave i vrata. Zagreb: Naklada Ljevak d.o.o., 2009: 293-9.
3. Nikšić Ivančić M. Zloćudni tumori grkljana. U: Bumber Ž, Katić V, Nikšić -Ivančić M i sur. Otorinolaringologija. Zagreb: Naklada Ljevak, d.o.o., 2004:273-5.
4. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak. Incidencija raka u Hrvatskoj 2011. Dostupno na: [http://www.hzjz.hr/publikacije/rak\\_36.pdf](http://www.hzjz.hr/publikacije/rak_36.pdf) Pristupljeno: 27.9.2013.
5. International agency for research on cancer. EUCAN. Contry factsheets: Croatia. Dostupno na: <http://eco.iarc.fr/eucan/Country.aspx?ISOCountryCd=191>. Pristupljeno: 27.09.2013.
6. Horn S, Ozsahin M, Lefèbvre JL, Horiot JC, Lartigau E. Larynx preservation: what is the standard treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012;84:97-105.
7. Cikojevic D, Glunčić I, Klancnik M. Cigarette smoking and progression of laryngeal lesions. *Coll Antropol* 2010;34:45-8.
8. International agency for research on cancer. Cancer epidemiology. Dostupno na: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/epi/cancerepi/CancerEpi-0.pdf> Pristupljeno: 27.9.2013.
9. International agency for research on cancer. EUREG. URL: <http://eco.iarc.fr/eureg/ViewCancer.aspx> Pristupljeno: 27.9.2013.
10. Manish J. Carcinoma Larynx in Children. *Int J Head Neck Surg* 2010;1:49-51.
11. Bindlish V, Papsin PC, Gilbert RW. Pediatric laryngeal cancer: Case report and review of literature. *J Otolaryngol* 2001;30:55.
12. Siddiqui F, Sarin R, Agarwal JP, et al. Squamous carcinoma of the larynx and hypopharynx in children: a distinct clinical entity? *Med Pediatr Oncol* 2003;40:322-4.
13. Smith RV, Fried MP. Advanced cancer of the larynx. In: Bailey BJ and Johnson JT (ed.) *Head and neck surgery - otolaryngology*. Philadelphia: Lippincott Williams i Wilkins, 2006:1757-77.
14. Parkin DM. Tobacco-attributable cancer burden in the UK in 2010. *Br J Cancer* 2011; 105(S2):S6-S13.

15. Parkin DM. Cancers attributable to consumption of alcohol in the UK in 2010. *Br J Cancer* 2011;105:S14-8.
16. Johnston N, Yan JC, Hoekzema CR, Samuels TL, Stoner GD, Blumin JH, Bock JM. Pepsin promotes proliferation of laryngeal and pharyngeal epithelial cells. *Laryngoscope* 2012;122:1317-25.
17. Brown T, Darnton A., Fortunato L; British Occupational Cancer Burden Study Group. Occupational cancer in Britain. Respiratory cancer sites: larynx, lung and mesothelioma. *Br J Cancer* 2012;107:S56-70.
18. Altieri A, Garavello W, Bosetti C, Gallus S, La Vecchia C. Alcohol consumption and risk of laryngeal cancer. *Oral Oncol* 2005;41:956–65.
19. Pantel M, Guntinas-Lichius O. Laryngeal carcinoma: epidemiology, risk factors and survival. *HNO* 2012;60:32-40.
20. Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, Ghissassi FE, et al. Carcinogenicity of alcoholic beverages. *Lancet Oncol* 2007;8:292–3.
21. Sobin LH, Gospodarovicz MK, Wittekind C. (eds.) TNM classification of malignant tumors ,7th Edition. Hoboken: Wiley-Blackwell 2009.
22. Raitiola H, Wigren T, Pukander J. Radiotherapy outcome and prognostic factors in early glottic carcinoma. *Auris Nasus Larynx* 2000;27:153-9.
23. Bumber Z, Prgomet D, Janjanin S. Endoscopic CO2 laser surgery for supraglottic cancer--ten years of experience. *Coll Antropol* 2009;33:87-91.
24. Mendenhall WM, Werning JW, Hinerman RW, Amdur RJ, Villaret DB. Management of T1-T2 glottic carcinomas. *Cancer* 2004;100:1786-92.
25. Higgins KM. What treatment for early-stage glottic carcinoma among adult patients: CO2 endolaryngeal laser excision versus standard fractionated external beam radiation is superior in terms of cost utility? *Laryngoscope* 2011;121:116-34.
26. Lefebvre JL. What is the role of primary surgery in the treatment of laryngeal and hypopharyngeal cancer? Hayes Martin Lecture. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 200;126:285-8.
27. Hoffman HT, Porter K, Karnell LH, Cooper JS, Weber RS, Langer CJ, Ang KK, Gay G, Stewart A, Robinson RA. Laryngeal cancer in the United States: changes in demographics, patterns of care, and survival. *Laryngoscope* 2006;116(Suppl. 111):1-13.
28. Chen AY, Halpern M. Factors predictive of survival in advanced laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;133:1270-6.

29. Ang KK. Larynx preservation clinical trial design: summary of key recommendations of a consensus panel. *Oncologist* 2010;15(Suppl. 3):25-9.
30. Prgomet D. New Modalities to Treat Laryngeal Cancer. *Coll Antropol* 2012; 36 (Suppl. 2):3-6.
31. Gussenbauer C. Ueber die erste durch Th. Billroth am Menschen ausgefuerte Kehlkopf-Extirpation und die Anwendung eines kuenstlichen Kehlkopfes. *Arch Klin Chir* 1874;17:343-56.
32. Zuur JK, Muller SH, de Jongh FH, van Zandwijk N, Hilgers FJ. The physiological rationale of heat and moisture exchangers in post-laryngectomy pulmonary rehabilitation: a review. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006;263:1-8.
33. Mérol JC, Charpiot A, Langagne T, Hémar P, Ackerstaff AH, Hilgers FJ. Randomized controlled trial on postoperative pulmonary humidification after total laryngectomy: external humidifier versus heat and moisture exchanger. *Laryngoscope* 2012;122:275-81.
34. Dassonville O, Mérol JC, Bozec A, Swierkosz F, Santini J, Chaïs A, Marcy PY, Giacchero P, Chamorey E, Poissonnet G. Randomised, multi-centre study of the usefulness of the heat and moisture exchanger (Provox HME®) in laryngectomised patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011;268:1647-54.
35. Liu H, Ng ML. Electrolarynx in voice rehabilitation. *Auris Nasus Larynx* 2007;34:327-32.
36. Ultra Voice, Malver. PA: Health Concepts.
37. Chen HC, Kim Evans KF, Salgado CJ, Mardini S. Methods of voice reconstruction. *Semin Plast Surg* 2010;24:227-32.
38. Xi S. Effectiveness of voice rehabilitation on vocalisation in postlaryngectomy patients: a systematic review. *Int J Evid Based Healthc* 2010;8:256-8.
39. Stafford FW. Current indications and complications of tracheoesophageal puncture for voice restoration after laryngectomy. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;11:89-95.
40. Robbins J, Fisher HB, Blom ED et al. Selected acoustic features of tracheoesophageal, esophageal and laryngeal speech. *Arch Otolaryngol* 1984;110:670-2.
41. Callanan VP, Toma A, Baldwin DL et al. A comparison of patient preferences and voice production between esophageal voice, Provox valve and the indwelling Bloom-Singer valve for postlaryngectomy voice rehabilitation. In: Algaba J. (ed.) *Surgery*

- and prosthetic voice restoration after total and subtotal laryngectomy. Amsterdam: Elsevier Science, 1996:327-31.
42. Bertino G, Bellomo A, Miani C, et al. Spectrographic analysis of tracheoesophageal vs. Esophageal speech. In: Algaba J. (ed.) Surgery and prosthetic voice restoration after total and subtotal laryngectomy. Amsterdam: Elsevier Science, 1996:333-8.
  43. Asai R. Laryngoplasty after total laryngectomy. *Arch Otolaryngol* 1972;95:114-9.
  44. Conley JJ, Deamesti F, Pierce MK. A new surgical technique for the vocal rehabilitation of the laryngectomized patient. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1958;67:655-64.
  45. Staffieri M, Serafini I. La riabilitazione chirurgica della voce er della respirazione dopo laringectomia totale. *Associazione Otologi Ospedaliere Italiana* 1976;1:222.
  46. Amatsu M. A one stage surgical technique for postlaryngectomy voice rehabilitation. *Laryngoscope* 1980;90:1378-86.
  47. Maves MD, Ligman RE. Primary vocal rehabilitation using Blom-Singer and Panje voice prosthesis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982;1:458-60.
  48. Hamaker RC, Singer MI, Blom ED, et al. Primary voice restoration at laryngectomy. *Arch Otolaryngol* 1985;111:182-6.
  49. Nijdam HF, Annyas AA, Schutte HK, Leever H. A new prosthesis for voice rehabilitation after laryngectomy. *Arch Otorhinolaryngol* 1982;237:27-33.
  50. Blom ED. Hamaker RC. Tracheoesophageal voice restoration folowing total laryngectomy. In: Mayers EN, Suen JY (ed.). *Cancer of the head and neck*. Philadelphia: WB Saunders, 1996:839-52.
  51. Mozolewski E: Surgical rehabilitation of voice and speech following laryngectomy. *Otolaryngol Pol* 1972;26:653-61.
  52. Singer MI, Blom ED. An endoscopic technique for voice restoration after total laryngectomy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1980;89:529-33.
  53. Hilgers FJM, van den Brekel MWM. Vocal and speech rehabilitation following laryngectomy. In: Flint, Haughey, Richardson, Robbins, Thomas, Niparko, and Lund (ed.) *Cummings otolaryngology: head and neck surgery*. Philadelphia: Elsevier, 2010:1594–610.
  54. Op de Coul B, Hilgers F, Balm A, Tan I, van den Hoogen F, van Tinteren H. A decade of postlaryngectomy vocal rehabilitation in 318 patients: a single Institutions experience with consistent application of provox indwelling voice prostheses. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000;126:1320-8.



55. Robbins J, Fisher HB, Blom EC, Singer MI. A comparative acoustic study of normal, esophageal, and tracheoesophageal speech production. *J Speech Hear Disord* 1984;49:202-10.
56. Max L, Steurs W, De Bruyn W. Vocal capacities in esophageal and tracheoesophageal speakers. *Laryngoscope* 1996;106:93-6.
57. Van As CJ, Hilgers FJM, Verdonck-de Leeuw IM, Koopmans-van Beinum FJ. Acoustical analysis and perceptual evaluation of tracheoesophageal prosthetic voice. *J Voice* 1998;12:239-48.
58. Capaccio P, Schindler A, Tassone G, Ottaviani F. Comparative study of esophageal and tracheo-esophageal voice by digital spectrographic analysis. *Acta Phon Lat* 2001;23:322-6.
59. Loebe LP, Gall V, Pfau EM. Comparison of phoniatric parameters in oesophageal and voice prosthetic speech. *Rev Laryngol* 1987;108:125-7.
60. Debruyne F, Delaere P, Wouters J, Uwents P. Acoustic analysis of tracheo-oesophageal versus oesophageal speech. *J Laryngol Otol* 1994;108:325-8.
61. Ljiljana Š, Dario Š, Marinela R, Stevanović S. Objective Assessment of Tracheoesophageal and Esophageal Speech Using Acoustic Analysis of Voice. *Coll Antropol* 2012;36:111-4.
62. Stajner-Katusić S, Horga D, Musura M, Globlek D. Voice and speech after laryngectomy. *Clin Linguist Phon* 2006;20:195-203.
63. Bertino G, Bellomo A, Miani C, Ferrero F, Staffieri A. Spectrographic differences between tracheal-esophageal and esophageal voice. *Folia Phoniatr Logop* 1996;48:255-61.
64. Piroddi P, Ottaviani F, Amorelli V, Cantarella G. Instrumental evaluation of tracheoesophageal voice. *Otolaringol* 1990;40:201-5.
65. Shultz JR, Harrison J. Defining and predicting tracheoesophageal puncture success. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1992;118:811-6.
66. Hotz MA, Baumann A, Schaller I, Zbären P. Success and predictability of provox prosthesis voice rehabilitation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128:687-91.
67. Terada T, Saeki N, Toh K, Uwa N, Sagawa K, Takayasu S, Sakagami M. Voice rehabilitation with Provox2 voice prosthesis following total laryngectomy for laryngeal and hypopharyngeal carcinoma. *Auris Nasus Larynx* 2007;34:65-71.

68. Lukinović J, Bilić M, Raguž I, Živković T, Kovač-Bilić L, Prgomet D. Overview of 100 Patients with Voice Prosthesis after Total Laryngectomy – Experience of Single Institution. *Coll Antropol* 2012;36:99–102.
69. Malik T, Bruce I, Cherry J. Surgical complications of tracheo-oesophageal puncture and speech valves. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;15:117-22.
70. Gregor R, Hassman E. Respiratory function in postlaryngectomy patients related to stomal size. *Acta Otolaryngol* 1984;97:177-83.
71. Roberts C, Rains J, Pare P, Walker D, Wiggs B, Bert J. Ultrastructure and tensile properties of human tracheal cartilage. *J Biomech* 1998;31:81-6.
72. Mackeith SA, Pankhania M, Hettige R, Gurr P. Balloon dilatation of tracheostomal stenosis with cuffed tracheostomy tube. A novel approach to tracheostomal dilatation. *Laryngoscope* 2011;121:583-4.
73. Lucioni M, Rizzotto G, Pazziaia T, Serafini I. Plastic tracheostomal-widening procedure: the "petal" technique. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2003;23:291-6.
74. Kim YH, Kim NH, Seong SY, Hyun DW, Choi HS. Double reversing Z-plasty with inferiorly widening stomaplasty for the management of tracheostomal stenosis. *Auris Nasus Larynx* 2010;37:361-4.
75. Lewin JS. Nonsurgical management of the stoma to maximize tracheoesophageal speech. *Otolaryngol Clin North Am* 2004;37:585-96.
76. Balm AJM, Van den Brekel MWM, Tan IB, Hilgers FJM, The indwelling voice prosthesis for speech rehabilitation after total laryngectomy: a safe approach. *Otolaryngol Pol* 2011;65:402-9.
77. Brok H, Stroeve R, Copper M, Schouwenburg P. The treatment of hypertonicity of the pharyngo-oesophageal segment after laryngectomy. *Clin Otolaryngol* 1998;23:302-7.
78. Op de Coul B, van den Hoogen FJ, van As CJ, Marres HA, Joosten FB, Manni JJ, Hilgers FJ. Evaluation of the effects of primary myotomy in total laryngectomy on the neoglottis with the use of quantitative videofluoroscopy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:1000-5.
79. Singer MI, Blom ED, Hamaker RC. Pharyngeal plexus neurectomy for alaryngeal speech rehabilitation. *Laryngoscope* 1986;96:50-4.
80. Singer MI, Gress CD. Voice rehabilitation after total laryngectomy. In: Bailey BJ, Johnson JT: *Head and neck surgery – Otolaryngology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2006:1779-91.

81. Lewin J, Bishop-Leone J, Forman A, Diaz E. Further experience with botox injection for tracheoesophageal speech failure. *Head & Neck* 2001;23:456-60.
82. Hilgers F, van As-Brooks C, Polak M, Tan I. Surgical improvement of hypotonicity in tracheoesophageal speech. *Laryngoscope* 2006;116:345-8.
83. Hilgers F, Soolsma J, Van den Brekel M, Ackerstaff A, Balm A, Tan I. A thin tracheal silicone washer solving periprosthetic leakage in laryngectomees; direct results and long-term clinical effects. *Laryngoscope* 2008;118:640-5.
84. Jacobs K, Delaere PR, Vander Poorten VL. Submucosal pursestring suture as a treatment of leakage around the indwelling voice prosthesis. *Head Neck* 2008;30:485-91.
85. Laccourreye O, Papon J, Brasnu D, Hans S. Autogenous fat injection for the incontinent tracheoesophageal puncture site. *Laryngoscope* 2002;112:1512-4.
86. Lorincz B, Lichtenberger G, Bihari A, Falvai J. Therapy of periprosthetic leakage with tissue augmentation using Bioplastique around the implanted voice prosthesis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2004;262:32-4.
87. Annyas A, Escajadillo J. Closure of tracheoesophageal fistulas after removal of the voice prosthesis. *Laryngoscope* 1984;94:1244-5.
88. Smith A, Buchinsky FJ, Post JC. Eradicating chronic ear, nose and throat infections. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011;144:338-47.
89. Mahieu H, Van Saene J, Den Besten J, Van Saene H. Oropharynx decontamination preventing Candida vegetations on voice prostheses. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1986;112:1090-2.
90. Busscher H, Bruinsma G, van Weissenbruch R, Leunisse C, van der Mei HC, Dijk F, Albers FW. The effect of buttermilk consumption on biofilm formation on silicone rubber voice prostheses in an artificial throat. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1998;255:410-3.
91. Soolsma J, Van den Brekel M, Ackerstaff A, Balm A, Tan I, Hilgers F. Long-Term Results of Provox ActiValve, Solving the Problem of Frequent Candida- and "Underpressure"- Related Voice Prosthesis Replacements. *Laryngoscope* 2008;118:252-7.
92. Leder SB, Acton LM, Kmiecik J, Ganz C, Blom ED. Voice restoration with the advantage tracheoesophageal voice prosthesis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;133:681-4.

93. Acton LM, Ross DA, Sasaki CT, Leder SB. Investigation of tracheoesophageal voice prosthesis leakage patterns: patient's selfreport versus clinician's confirmation. *Head Neck* 2008;30:618-21.
94. Hilgers FJ, Balm AJ. Long-term results of vocal rehabilitation after total laryngectomy with the low-resistance, indwelling Provox voice prosthesis system. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1993;18:517-23.
95. Hutcheson KA, Lewin JS, Sturgis EM, Kapadia A, Risser J. Enlarged tracheoesophageal puncture after total laryngectomy: a systematic review and meta-analysis. *Head Neck* 2011;33:20-30.
96. Issing WJ, Fuchshuber S, Wehner M. Incidence of tracheo-oesophageal fistulas after primary voice rehabilitation with the Provox or the Eska-Herrmann voice prosthesis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2001;258:240-2.
97. Blom ED. Some comments on the escalation of tracheoesophageal voice prosthesis dimensions. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:500-2.
98. Hutcheson KA, Lewin JS, Sturgis EM, Risser J. Multivariable analysis of risk factors for enlargement of the tracheoesophageal puncture after total laryngectomy. *Head Neck* 2012;34:557-67.
99. Boscolo-Rizzo P, Marchiori C, Gava A, Da Mosto MC. The impact of radiotherapy and GERD on in situ lifetime of indwelling voice prostheses. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008;265:791-6.
100. Pattani KM, Morgan M, Nathan CO. Reflux as a cause of tracheoesophageal puncture failure. *Laryngoscope* 2009;119:121-5.
101. Lorenz KJ, Grieser L, Ehrhart T, Maier H. Role of reflux in tracheoesophageal fistula problems after laryngectomy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2010;119:719-28.
102. Cocuzza S, Bonfiglio M, Chiamonte R, Aprile G, Mistretta A, Grosso G, Serra A. Gastroesophageal reflux disease and postlaryngectomy tracheoesophageal fistula. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012;269:1483-8.
103. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterology* 2006;101:1900-20.
104. Koufman JA, Aviv JE, Casiano RR, Shaw GY. Laryngopharyngeal reflux: Position statement of the Committee on speech, voice and swallowing disorders of the American Academy of otolaryngology-head and neck surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;127:32-5.

105. Johnson LF, Demeester R. Twenty four hour pH monitoring of the distal esophagus. A quantitative measure of gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterol* 1974;62:325-32.
106. Lipan MJ, Reidenberg JS, Laitman JT. Anatomy of reflux: a growing health problem affecting structures of the head and neck. *Anat Rec B New Anat* 2006;289:261-70.
107. Koufman JA. The otolaryngologic manifestations of gastroesophageal reflux disease (GERD): a clinical investigation of 225 patients using ambulatory 24-hour pH monitoring and an experimental investigation of the role of acid and pepsin in the development of laryngeal injury. *Laryngoscope* 1991;101(Suppl. 53):1-78.
108. Postma GN, Tomek MS, Belafsky PC, Koufman JA. Esophageal motor function in laryngopharyngeal reflux is superior to that in classic gastroesophageal reflux disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110:1114-6.
109. Merati AL, Lim HJ, Ulualp SO, Toohill RJ. Meta-analysis of upper probe measurements in normal subjects and patients with laryngopharyngeal reflux. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005;114:177-82.
110. Holloway R, Dent J. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. Lower esophageal sphincter dysfunction in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1990;19:517-35.
111. Mittal RK, Balaban DH. Mechanisms of disease: the esophagogastric junction. *N Engl J Med* 1997;336:924-32.
112. Mittal RK, McCallum RW. Characteristics and frequency of transient relaxations of the lower esophageal sphincter in patients with reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1988;95:593-9.
113. Richter J. Do we know the cause of reflux disease? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;1(Suppl.1):S3-9.
114. Grossi L, Ciccaglione AF, Marzio L. Transient lower oesophageal sphincter relaxations play an insignificant role in gastro-oesophageal reflux to the proximal oesophagus. *Neurogastroenterol Motil* 2001;13:503-9.
115. De Giorgi F, Palmiero M, Esposito I, Mosca F, Cuomo R. Pathophysiology of gastro-oesophageal reflux disease. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2006;26:241-6.
116. Knight RE, Wells JR, Parrish RS. Esophageal dysmotility as an important co-factor in extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux. *Laryngoscope* 2000;110:1462-6.

117. Eckley CA, Costa HO. Estudo da concentração salivar do fator de crescimento epidérmico em indivíduos com laringite crônica por refluxo laringofaríngeo. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2003;69:590-7.
118. Eckley CA, Rios LS, Rizzo LV. Estudo comparativo da concentração salivar do fator de crescimento epidérmico em indivíduos com laringite crônica por doença do refluxo gastroesofágico antes e após o tratamento: resultados preliminares. *Braz J Otorhinolaryngol* 2007;73:156-60.
119. Eckley CA, Michelsohn N, Rizzo LV, Tadokoro CE, Costa HO. Salivary epidermal growth factor concentration in adults with reflux laryngitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;131:401-6.
120. Tobey NA, Powell DW, Schreiner VJ, Orlando RC. Serosal bicarbonate protects against acid injury to rabbit esophagus. *Gastroenterology* 1989;96:1466-77.
121. Singh S, Hamdy S. The upper oesophageal sphincter. *Neurogastroenterol Motil* 2005;17:3-12.
122. Sivarao DV, Goyal RK. Functional anatomy and physiology of upper esophageal sphincter. *Am J Med* 2000;108:27S-37.
123. Brok HA, Cooper MP, Stroeve RJ, Ongerboer de Visser BW, Venker-van Haagen AJ, Schouwenburg PF. Evidence for recurrent laryngeal nerve contribution in motor innervation of human cricopharyngeal muscle. *Laryngoscope* 1999;109:705-8.
124. Mu L, Sanders I. The innervation of the human upper esophageal sphincter. *Dysphagia* 1996;11:234-8.
125. Kahrilas PJ, Dent J, Dodds WJ, Hogan WJ, Arndorfer RC. A method for continuous monitoring of upper esophageal sphincter pressure. *Dig Dis Sci* 1987;32:121-8.
126. Castell JA, Dalton CB, Castell DO. Pharyngeal and upper esophageal sphincter manometry in humans. *Am J Physiol* 1990;258:G173-8.
127. Cook IJ, Dodds WJ, Dantas RO et al. Opening mechanisms of human upper esophageal sphincter. *Am J Physiol* 1989;257:G748-59.
128. Monges H, Salducci J, Naudy B. The upper esophageal sphincter during vomiting, eructation, and distension of the cardia: an electromyographic study in the unanaesthetised dog. In: Duthie H. (ed.) *Gastrointestinal Motility in Health and Disease*. Lancaster: MTP Press, 1978:575-83.
129. Lang IM, Sarna SK, Dodds WJ. Pharyngeal, esophageal, and proximal gastric responses associated with vomiting. *Am J Physiol* 1993;265:G963-72.

130. Kahrilas PJ, Dodds WJ, Dent J et al. Effect of sleep, spontaneous gastroesophageal reflux, and a meal on upper esophageal sphincter pressure in normal human volunteers. *Gastroenterology* 1987;92:466-71.
131. Ribeiro AC, Klingler PJ, Hinder RA et al. Esophageal manometry: a comparison of findings in younger and older patients. *Am J Gastroenterol* 1998;93:706–10.
132. Ulualp SO, Toohill RJ, Kern M, Shaker R. Pharyngo-UES contractile reflex in patients with posterior laryngitis. *Laryngoscope* 1998;108:1354-7.
133. Celik M, Alkan Z, Ercan I, et al. Cricopharyngeal muscle electromyography in laryngopharyngeal reflux. *Laryngoscope* 2005;115:138-42.
134. Szczesniak MM, Williams RB, Brake HM, Maclean JC, Cole IE, Cook IJ. Upregulation of the esophago-UES relaxation response: a possible pathophysiological mechanism in suspected reflux laryngitis. *Neurogastroenterol Motil* 2010;22:381-6.
135. Wiener GJ, Tsukashima R, Kelly C et al. Oropharyngeal pH monitoring for the detection of liquid and aerosolized supraesophageal gastric reflux. *J Voice* 2009;23:498-504.
136. Ayazi S, Lipham JC, Hagen JA et al. A new technique for measurement of pharyngeal pH: normal values and discriminating pH threshold. *J Gastrointest Surg* 2009;13:1422-9.
137. Szczesniak MM, Williams RB, Cook IJ. Mechanisms of esophago-pharyngeal acid regurgitation in human subjects. *PLoS One* 2011;6:e22630.
138. Aviv JE, Liu H, Parides M, Kaplan ST, Close LG. Laryngopharyngeal sensory deficits in patients with laryngopharyngeal reflux and dysphagia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109:1000-6.
139. Hirschowitz BI. Pepsin and the esophagus. *Yale J Biol Med* 1999;72:133-43.
140. Farr'e R, Fornari F, Blondeau K et al. Acid and weakly acidic solutions impair mucosal integrity of distal exposed and proximal non-exposed human oesophagus. *Gut* 2010;59:164-9.
141. Amarasiri DL, Pathmeswaran A, de Silva HJ, Ranasinha CD. Response of the airways and autonomic nervous system to acid perfusion of the esophagus in patients with asthma: a laboratory study. *BMC Pulm Med* 2013;13:33.
142. Herve P, Denjean A, Jian R, Simonneau G, Duroux P. Intraesophageal perfusion of acid increases the bronchomotor response to methacholine and to isocapnic hyperventilation in asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:986-9.

143. Barlow WJ, R. C. Orlando. The pathogenesis of heartburn in nonerosive reflux disease: a unifying hypothesis. *Gastroenterology* 2005;128:771-8.
144. Bardhan KD, Strugala V, Dettmar PW. Reflux revisited: advancing the role of pepsin. *Int J Otolaryngol* 2012;2012:1-13.
145. Etherington DJ, Taylor. The pepsins of normal human gastric juice. *Biochem J* 1969;113:663-8.
146. Johnston N, Dettmar PW, Bishwokarma B, Lively MO, Koufman JA. Activity/stability of human pepsin: implications for reflux attributed laryngeal disease. *Laryngoscope* 2007;117:1036-9.
147. Dolz A., Engel J, Kuhn H. Folding of collagen. IV. *Eur J Biochem* 1988;178:357-66.
148. Johnston N, Knight J, Dettmar PW, Lively MO, Koufman J. Pepsin and carbonic anhydrase isoenzyme III as diagnostic markers for laryngopharyngeal reflux disease. *Laryngoscope* 2004;114:2129-34.
149. Johnston N, Wells CW, Blumin JH, Toohill RJ, Merati AL. Receptor-mediated uptake of pepsin by laryngeal epithelial cells. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2007;116:934-8.
150. Gill GA, Johnston N, Buda A et al. Laryngeal epithelial defenses against laryngopharyngeal reflux: investigations of E-cadherin, carbonic anhydrase isoenzyme III, and pepsin. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005;114:913-21.
151. Johnston N, Dettmar PW, Lively MO et al. Effect of pepsin on laryngeal stress protein (Sep70, Sep53, and Hsp70) response: role in laryngopharyngeal reflux disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115:47-58.
152. Samuels TL, Handler E, Syring ML et al. Mucin gene expression in human laryngeal epithelia: effect of laryngopharyngeal reflux. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2008;117:688-95.
153. Stipa F, Stein HJ, Feussner H, Kraemer S, Siewert JR. Assessment of non-acid esophageal reflux: comparison between long-term reflux aspiration test and fiberoptic bilirubin monitoring. *Dis Esophagus* 1997;10:24-8.
154. Vaezi MF, Richter JE. Role of acid and duodenogastroesophageal reflux in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1996;111:1192-9.
155. McQuaid KR, Laine L, Fennerty MB, Souza R, Spechler SJ. Systematic review: the role of bile acids in the pathogenesis of gastro-oesophageal reflux disease and related neoplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:146-65.



156. Galli J, Calò L, Agostino S, Cadoni G, Sergi B, Cianci R, Cammarota G. Bile reflux as possible risk factor in laryngopharyngeal inflammatory and neoplastic lesions. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2003;23:377-82.
157. Perng DW, Chang KT, Su KC, Wu YC, Wu MT, Hsu WH, Tsai CM, Lee YC. Exposure of airway epithelium to bile acids associated with gastroesophageal reflux symptoms: a relation to transforming growth factor-beta1 production and fibroblast proliferation. *Chest* 2007;132:1548-56.
158. Sung MW, Roh JL, Park BJ, Park SW, Kwon TK, Lee SJ, Kim KH. Bile acid induces cyclo-oxygenase-2 expression in cultured human pharyngeal cells: a possible mechanism of carcinogenesis in the upper aerodigestive tract by laryngopharyngeal reflux. *Laryngoscope* 2003;113:1059-63.
159. Perng DW, Chang KT, Su KC, Wu YC, Wu MT, Hsu WH, Tsai CM, Lee YC. Exposure of airway epithelium to bile acids associated with gastroesophageal reflux symptoms: a relation to transforming growth factor-beta1 production and fibroblast proliferation. *Chest* 2007;132:1548-56.
160. Naito Y, Uchiyama K, Kuroda M, Takagi T, Kokura S, Yoshida N, Ichikawa H, Yoshikawa T. Role of pancreatic trypsin in chronic esophagitis induced by gastroduodenal reflux in rats. *J Gastroenterol* 2006;41:198-208.
161. Shan J, Oshima T, Chen X, Fukui H, Watari J, Miwa H. Trypsin impaired epithelial barrier function and induced IL-8 secretion through basolateral PAR-2: a lesson from a stratified squamous epithelial model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012;303:G1105-12.
162. Belafsky PC, Postma GN, Koufman JA. Validity and reliability of the reflux symptom index (RSI). *J Voice* 2002;16:274-7.
163. Belafsky PC, Postma GN, Koufman JA. The validity and reliability of the reflux finding score (RFS). *Laryngoscope* 2001;111:1313-7.
164. Wiener GJ, Koufman JA, Wu WC et al. The pharyngo-esophageal dual ambulatory pH probe for evaluation of atypical manifestations gastroesophageal reflux (GER). *Gastroenterology* 1987;92:1694.
165. Postma GN, Belafsky PC, Aviv JE, Koufman, JA. Laryngopharyngeal reflux testing. *Ear Nose Throat J* 2002;81:14-8.
166. Vincent DA., Garrett JD, Radionoff SL, Reussner LA, Stasney CR. The proximal probe in esophageal pH monitoring: development of a normative database. *J Voice* 2002;14:247-54.

167. Vandenas Y, Franckx-Goossens A, Pipeleers-Marichal M, Derde MP, Sacre-Smits L. Area under pH 4: advantages of a new parameter in the interpretation of esophageal pH monitoring data in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989;9:34-9.
168. Sifrim D, Castell D, Dent J, Kahrilas PJ. Gastro-oesophageal reflux monitoring: review and consensus report on detection and definitions of acid, non-acid, and gas reflux. *Gut* 2004;53:1024-31.
169. Andersson O, Ylitalo R, Finizia C, Bove M, Magnus R. Pharyngeal reflux episodes at pH 5 in healthy volunteers. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:138-43.
170. Vaezi MF, Schroeder PL, Richter JE. Reproducibility of proximal probe pH parameters in 24-hour ambulatory esophageal pH monitoring. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:825-9.
171. Hirano I, Richter JE. ACG practice guidelines: esophageal reflux testing. *Am J Gastroenterol* 2007;102:668-85.
172. Oelschlager BK, Quiroga E, Isch JA, Cuenca-Abente F. Gastroesophageal and pharyngeal reflux detection using impedance and 24-hour pH monitoring in asymptomatic subjects: defining the normal environment. *J Gastrointest Surg* 2006;10:54-62.
173. Tyler M. Burpee, MD, Dennis L. Christie MD. pH monitoring for the detection of extraesophageal manifestations of gastroesophageal reflux in children. *J Pediatr Oropharyngeal Gastroenterol Nutr* 2009;49:Suppl 1.
174. Silny J. Intraluminal multiple electric impedance procedure for measurement of gastrointestinal motility. *J Gastrointest Motil* 1991;3:151-62.
175. Kawamura O, Aslam M, Rittmann T, Hofmann C, Shaker R. Physical and pH properties of gastroesophagopharyngeal refluxate: a 24-hour simultaneous ambulatory impedance and pH monitoring study. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1000-10.
176. Jovov B, Que J, Tobey NA, Djukic Z, Hogan BLM, Orlando RC. Role of e-cadherin in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1039-47.
177. Di Lorenzo G, Mansueto P, Esposito-Pellitteri M et al. The characteristics of different diagnostic tests in adult mild asthmatic patients: comparison with patients with asthma-like symptoms by gastro-oesophageal reflux. *Respir Med* 2007;101:455-61.

178. Emilsson OI, Gíslason T, Olin AC, Janson C, Olafsson I. Biomarkers for gastroesophageal reflux in respiratory diseases. *Gastroenterol Res Pract* 2013;2013:148086.
179. Pauwels A, Decraene A, Blondeau K et al. Bile acids in sputum and increased airway inflammation in patients with cystic fibrosis. *Chest* 2012;141:1568-74.
180. Mertens V, Blondeau K, Van Oudenhove L et al. Bile acids aspiration reduces survival in lung transplant recipients with BOS despite azithromycin. *Am J Transplant* 2011;11:329-35.
181. D'Ovidio F, Mura M, Tsang M et al. Bile acid aspiration and the development of bronchiolitis obliterans after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129:1144-52.
182. Carpagnano GE, Resta O, Ventura MT et al. Airway inflammation in subjects with gastro-oesophageal reflux and gastro-oesophageal reflux-related asthma. *J Intern Med* 2006;259:323-31.
183. Patterson RN, Johnston BT, Ardill JES, Heaney LG, McGarvey LPA. Increased tachykinin levels in induced sputum from asthmatic and cough patients with acid reflux. *Thorax* 2007;62:491-5.
184. Elabiad MT, Zhang J. Detection of pepsinogen in the neonatal lung and stomach by immunohistochemistry. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011;53:401-3.
185. Miura MS, Mascaro M, Rosenfeld RM. Association between otitis media and gastroesophageal reflux: a systematic review. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2012;146:345-52.
186. Wong IW, Rees G, Greiff L, Myers JC, Jamieson GG, Wormald PJ. Gastroesophageal reflux disease and chronic sinusitis: in search of an esophageal-nasal reflex. *Am J Rhinol Allergy* 2010;24:255-9.
187. Hanna BC, Wormald PJ. Gastroesophageal reflux and chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2012;20:15-8.
188. Ozmen S, Yücel OT, Sinici I, Ozmen OA, Süslü AE, Öğretmenoğlu O, Onerci M. Nasal pepsin assay and pH monitoring in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2008;118:890-4.
189. Samuels TL, Johnston N. Pepsin as a Marker of Extraesophageal reflux. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2010;119:203-8.

190. Saritas Yuksel E, Hong SK, Strugala V, Slaughter JC, Goutte M, Garrett CG, Dettmar PW, Vaezi MF. Rapid salivary pepsin test: blinded assessment of test performance in gastroesophageal reflux disease. *Laryngoscope* 2012;122:1312-6.
191. Koufman JA. Low-acid diet for recalcitrant laryngopharyngeal reflux: therapeutic benefits and their implications. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2011;120:281-7.
192. Gatta L, Vaira D, Sorrenti G, Zucchini S, Sama C, Vakil N. Meta-analysis: the efficacy of proton pump inhibitors for laryngeal symptoms attributed to gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:385-92.
193. Chang AB, Lasserson TJ, Kiljander TO, Connor FL, Gaffney JT, Garske LA. Systematic review and metaanalysis of randomised controlled trials of gastro-oesophageal reflux interventions for chronic cough associated with gastrooesophageal reflux. *BMJ* 2006;332:11-7.
194. Ours TM, Kavuru MS, Schilz RJ, Richter JE. A prospective evaluation of esophageal testing and a doubleblind, randomized study of omeprazole in a diagnostic and therapeutic algorithm for chronic cough. *Am J Gastroenterol* 1999;94:3131-8.
195. Baron JH, Gribble RJ, Holdstock DJ, Misiewicz JJ. Double-blind controlled trial of amylopectin sulphate (Depepsen) in the symptomatic treatment of duodenal ulcer. *Gut* 1977;18:723-4.
196. Cocking JB. A trial of amylopectin sulfate (SN-263) and propantheline bromide in the long term treatment of chronic duodenal ulcer. *Gastroenterology* 1972;62:6-10.
197. Landecker KD, McCallum EM, Fevre DI et al. Effect of sodium amylosulfate (Depepsen) on the healing of duodenal ulcer. *Gastroenterology* 1976;71:723-5.
198. Bonnevie O, Svendsen LB, Holst-Christensen J et al. Double-blind randomised clinical trial of a pepsin-inhibitory pentapeptide (pepstatin) in the treatment of duodenal ulcer. *Gut* 1979;20:624-8.
199. Strugala V, Avis J, Jolliffe IA, Johnstone LM, Dettmar PW. The role of an alginate suspension on pepsin and bile acids—key aggressors in the gastric refluxate. Does this have implications for the treatment of GORD? *J Pharm Pharmacol* 2009;61:1021-8.
200. McGlashan JA, Johnstone LM, Strugala V, Dettmar PW. The value of a liquid alginate suspension (Gaviscon Advance) in the management of laryngopharyngeal reflux. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009;266:243-51.

201. Strugala V, Dettmar PW. Alginate in the treatment of extra-oesophageal reflux. In: Effects, Diagnosis and Management of Extra-Esophageal Reflux, N. Johnson and R. J. Toohill. (eds.) Nova Science Publishers: New York, 2010.
202. Zhi XT, Kavic SM, Park AE. Management of gastroesophageal reflux disease: medications, surgery, or endoscopic therapy? Current status and trends. *J Long Term Eff Med Implants* 2005;15:375-88.
203. Triadafilopoulos G. Endotherapy and surgery for GERD. *J Clin Gastroenterol* 2007;41 (Suppl. 2):S87-96.
204. Sidhu AS, Triadafilopoulos G. Neuro-regulation of lower esophageal sphincter function as treatment for gastroesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol* 2008;14:985-90.
205. Aprea G, Ferronetti A, Canfora A, Cardin F, Giugliano A, Guida F, Braun A, Battaglini Ciciriello M, Tovecci F, Mastrobuoni G, Amato B. GERD in elderly patients: surgical treatment with Nissen-Rossetti laparoscopic technique, outcome. *BMC Surg* 2012;12(Suppl. 1):S4.
206. Ip S, Bonis P, Tatsioni A, et al. Comparative effectiveness of management strategies for gastroesophageal reflux disease. *Comparative Effectiveness Reviews*, No 1. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality 2005, PMID: 21348043.
207. Varin O, Velstra B, De Sutter S, Ceelen W. Total vs partial fundoplication in the treatment of gastroesophageal reflux disease: a meta-analysis. *Arch Surg* 2009 144:273-8.
208. Copper MP, Smit CF, Stanojic LD, Devriese PP, Schouwenburg PF, Mathus-Vliegen LM. High incidence of laryngopharyngeal reflux in patients with head and neck cancer. *Laryngoscope* 2000;110:1007-11.
209. Langevin SM, Michaud DS, Marsit CJ, Nelson HH, Birnbaum AE, Eliot M, Christensen BC, McClean MD, Kelsey KT. Gastric reflux is an independent risk factor for laryngopharyngeal carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:1061-8.
210. Smith CF, Tan J, Mathus-Vliegen LM, Devriese PP, Brandsen M, Grolman W, Schouwenburg PF. High incidence of gastropharyngeal and gastroesophageal reflux after total laryngectomy. *Head Neck* 1998;20:619-22.

211. Barbiera F, Fiorentino E, Lo Greco V, Galia M, Musto GA, Runza G, Sorrentino F, Sparacia G, Lo Casto A. Digital cineradiography of the pharynx and the oesophagus after total or partial laryngectomy. *Radiol Med* 2003;106:169-77.
212. Muller-Miny H, Eisele DW, Jones B. Dynamic radiographic imaging following total laryngectomy. *Head Neck* 1993;15:342-7.
213. Choi EC, Hong WP, Kim CB, Yoon HC, Nam JI, Son EJ, Kim KM, Kim SH. Changes of esophageal motility after total laryngectomy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;128:691-9.
214. Hanks JB, Fisher SR, Meyers WC, Christian KC, Postlethwait RW, Jones RS. Effect of total laryngectomy on esophageal motility. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1981;90:331-4.
215. Kuhnt T, Jirsak N, Müller AC, Pelz T, Gernhardt C, Schaller HG, Janich M, Gerlach R, Dunst J. Quantitative and qualitative investigations of salivary gland function in dependence on irradiation dose and volume for reduction of xerostomia in patients with head-and-neck cancer. *Strahlenther Onkol* 2005;181:520-8.
216. Izdebski K, Fontanesi J, Ross JC, Hetzler D. The effects of irradiation on alaryngeal voice of totally laryngectomized patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;14:1281-6.
217. Jobe BA, Rosenthal E, Wiesberg TT, Cohen JI, Domreis JS, Deveney CW, Sheppard B. Surgical management of gastroesophageal reflux and outcome after laryngectomy in patients using tracheoesophageal speech. *Am J Surg* 2002;183:539-43.
218. Bock JM, Brawley MK, Johnston N, Samuels T, Massey BL, Campbell BH, Toohill RJ, Blumin JH. Analysis of pepsin in tracheoesophageal puncture sites. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2010;119:799-805.
219. Gultekin E, Yelken K, Garca MF, Develioglu ON, Kulekci M. Effects of neck dissection and radiotherapy on short-term speech success in voice prosthesis restoration patients. *J Voice* 2011;25:245-8.
220. de Carpentier JP, Ryder WD, Saeed SR, Woolford TJ. Survival times of Provox valves. *J Laryngol Otol* 1996;110:37-42.
221. Boscolo-Rizzo P, Zanetti F, Carpené S, Da Mosto MC. Long-term results with tracheoesophageal voice prosthesis: primary versus secondary TEP. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008;265:73-7.

222. Delsupehe K, Zink I, Lejaegere M, Delaere P. Prospective randomized comparative study of tracheoesophageal voice prosthesis: Blom-Singer versus Provox. *Laryngoscope* 1998;108:1561-5.
223. Wang L, Liu X, Liu YL, Zeng FF, Wu T, Yang CL, Shen HY, Li XP. Correlation of pepsin-measured laryngopharyngeal reflux disease with symptoms and signs. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2010;143:765-71.
224. Hadžibegović AD, Đanić D, Prgomet D, Tićac R, Kozmar A. Analysis of Saliva Pepsin Level in Patients with Tracheoesophageal Fistula and Voice Prosthesis Complications. *Coll Antropol* 2012;36(Suppl. 2):93-7.
225. Korsten MA, Rosman AS, Fishbein S, Slein RD, Goldberg HE, Beiner A. Chronic xerostomia increases esophageal acid exposure and is associated with esophageal injury. *Am J Med* 1991;90:701-6.
226. Choi JH, Lee CG, Lim YJ, Kang HW, Lim CY, Choi JS. Prevalence and risk factors of esophageal candidiasis in healthy individuals: a single center experience in Korea. *Yonsei Med J* 2013;54:160-5.
227. Lorenz KJ, Grieser L, Ehrhart T, Maier H. Laryngectomised patients with voice prostheses: influence of supra-esophageal reflux on voice quality and quality of life. *HNO* 2011;59:179-87.
228. Lorenz KJ, Grieser L, Ehrhart T, Maier H. The management of periprosthetic leakage in the presence of supra-oesophageal reflux after prosthetic voice rehabilitation. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011;268:695-702.
229. Jobe BA, Rosenthal E, Wiesberg TT, Cohen JI, Domreis JS, Deveney CW, Sheppard B. Surgical management of gastroesophageal reflux and outcome after laryngectomy in patients using tracheoesophageal speech. *Am J Surg* 2002;183:539-43.

## 11. ŽIVOTOPIS

Ana Đanić Hadžibegović rođena je 23. svibnja 1980. godine u Slavanskom Brodu. Udana je i majka je dvije kćerke, a s obitelji živi i radi u Slavanskom Brodu.

U Slavanskom Brodu 1994. godine završila je osnovnu školu, 1995. osnovnu glazbenu školu, a 1998. opću gimnaziju. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala je 1998. godine. Bila je demonstrator na Katedri za anatomiju 1999./2000. i 2000./2001. i radila je aktivno u uredništvu studentskog časopisa „Medicinar“ od 1999. do 2004. godine. U akademskoj godini 2002./2003. zajedno s kolegom Irzalom Hadžibegovićem pod mentorstvom prof. dr. sc. Borisa Labara osvojila je Rektorovu nagradu za studentski znanstveni rad „Ne-Hodgkinovi limfomi u bolesnika starije životne dobi“. Medicinski fakultet u Zagrebu završila je u lipnju 2004. godine s prosječnom ocjenom 4,11.

Liječnički staž provela je u Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ u Slavanskom Brodu i položila pripravnički ispit 2005. godine. Specijalizaciju iz otorinolaringologije započela je u prosincu 2005. godine, a specijalistički ispit položila u srpnju 2011. godine od kada radi kao odjelni liječnik specijalist na Odjelu za bolesti uha, nosa i grla i kirurgiju glave i vrata Opće bolnice „Dr. Josip Benčević“ u Slavanskom Brodu.

Član je Hrvatskog društva za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata, Hrvatskog društva za maksilofacijalnu kirurgiju, Hrvatskog društva za tumore glave i vrata te Hrvatskog društva za štitnjaču.

Do sada je objavila 17 znanstvenih radova u časopisima indeksiranim u relevantnim bazama podataka, te ima ukupno 22 nezavisna citata u Science Citation Indexu. Doktorski studij „Biomedicina i zdravstvo“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2006. godine. Od rujna 2011. asistent je na Katedri za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu kirurgiju Medicinskog fakulteta Osijek, Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku.