

# Markeri endotelne disfunkcije i kronične bubrežne promjene u hrvatskih vojnika inficiranih hantavirusima u Domovinskom ratu

---

Ledina, Dragan

Doctoral thesis / Disertacija

2011

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:105:428945>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-26**



Repository / Repozitorij:

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





## **Središnja medicinska knjižnica**

**Ledina, Dragan (2011) *Markeri endotelne disfunkcije i kronične bubrežne promjene u hrvatskih vojnika inficiranih hantavirusima u Domovinskom ratu. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.***

<http://medlib.mef.hr/978>

University of Zagreb Medical School Repository

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

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Dragan Ledina**

**Markeri endotelne disfunkcije i kronične  
bubrežne promjene u hrvatskih vojnika  
inficiranih hantavirusima  
u Domovinskom ratu**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2011.**

Rad je izrađen u Klinici za infektologiju Kliničkog bolničkog centra Split te u Odjelu za znanstvena istraživanja Klinike za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu

Voditelj rada: prof. dr. sc. Alemka Markotić

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Alemki Markotić na nesebičnoj pomoći, uloženom trudu, savjetima i velikom strpljenju prilikom izrade disertacije.

Zahvaljujem osoblju Klinike za infektologiju KBC-a Split na susretljivosti prilikom izrade ovog rada, osobito Doc. dr. sc. Ivi Iviću. Zahvaljujem dipl. ing. Anti Tadinu iz Klinike za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu na pomoći u testiranju markera endotelne disfunkcije. Zahvaljujem prof. Dijani Kavelj na lektoriranju.

Zahvaljujem supruzi i djeci na podršci, razumijevanju i ljubavi.

# SADRŽAJ

## POPIS KRATICA

<b>1. UVOD</b>	1
1.1. Etiologija HVBS-a	2
1.2. Epidemiologija HVBS-a i HKPS-a	3
1.2.1. Distribucija infekcije	3
1.2.2. Rezervoari zaraze i način prijenosa	5
1.2.3. Pojavnost HVBS-a u vojnim postrojbama kroz povijest	7
1.2.4. Rizične skupine	9
1.3. Patogeneza HVBS-a i HKPS-a	10
1.3.1. Imunologija HVBS-a i HKPS-a	12
1.4. Klinička slika	13
1.4.1. Klinička slika HVBS-a	13
1.5. HVBS u Hrvatskoj	16
1.6. Kronične posljedice hantavirusnih infekcija	18
1.7. Marker endotelne disfunkcije	21
1.7.1. Međustanična adhezijska molekula-1 (ICAM-1) i vaskularna stanična adhezijska molekula-1 (VCAM-1)	23
1.7.2. P-selektin i E-selektin	23
1.7.3. Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF)	24
1.7.4. Von Willebrandov faktor (vWf)	25
1.7.5. C-reaktivni protein	26
<b>2. HIPOTEZE</b>	27
<b>3. CILJEVI</b>	27
<b>4. ISPITANICI I METODE</b>	28
4.1. Bolesnici	28
4.2. Kontrolna skupina	29
4.3. Metode	30

<b>5. REZULTATI</b>	34
5.1. Analiza anamnestičkih i kliničkih podataka	34
5.1.1. Rezultati seroloških pretraga i stupnjevanje težine HVBS-a tijekom akutne faze	34
5.1.2. Rezultati mjerenja krvnog tlaka	35
5.2. Hematološki nalazi	35
5.3. Biokemijski nalazi	38
5.3.1 Biokemijske vrijednosti u 24-satnom urinu	38
5.4. Mikrobiološke pretrage	39
5.5. Aparaturne (slikovne) pretrage	48
5.5.1. EKG	51
5.5.2. Očni fundus	51
5.5.3. Ultrazvuk trbuha	52
5.6. Imunološki parametri-markeri endotelne disfunkcije	52
5.7. Razlike između laboratorijskih nalaza i kliničkih parametara u bolesnika s HVBS-om koji su imali laku i srednje tešku kliničku sliku bolesti	66
<b>6. RASPRAVA</b>	84
<b>7. LITERATURA</b>	97
<b>8. ZAKLJUČCI</b>	113
<b>9. SAŽETAK</b>	115
<b>10. SUMMARY</b>	117
<b>11. ŽIVOTOPIS</b>	119

## **POPIS OZNAKA I KRATICA**

<b>ARDS</b>	adultni respiratorni distres sindrom (od engl. adult respiratory distres syndrome)
<b>ALT</b>	alanin aminotransferaza
<b>AST</b>	aspartat aminotransferaza
<b>C'</b>	komplement
<b>CDC</b>	centri za kontrolu bolesti (od engl. Centres for Disease Control)
<b>CRP</b>	C-reaktivni protein
<b>DIK</b>	diseminirana intravaskularna koagulacija
<b>DKS</b>	diferencijalna krvna slika
<b>DOBV</b>	virus Dobrava
<b>E</b>	eritrociti
<b>ECMO</b>	izvantjelesna membranska oksigenacija (od eng. Extracorporeal membrane oxygenation)
<b>EKG</b>	elektrokardiogram
<b>ELISA</b>	enzimski imunotest (od engl. Enzyme-Linked ImmunSorbent Aassay)
<b>EN</b>	epidemijska nefropatija
<b>ES</b>	endotelne stanice
<b>GGT</b>	gama glutamil transferaza
<b>HIV</b>	virus humane imunodeficijencije
<b>HKPS</b>	hantavirus kardiopulmonalni sindrom
<b>HTV</b>	hantavirus
<b>HVBS</b>	hemoragijska vrućica s bubrežnim sindromom
<b>HV</b>	Hrvatska vojska
<b>ICAM</b>	međustanična adhezijska molekula (od engl. intracellular adhesion molecule)
<b>IL</b>	interleukin
<b>Ig</b>	imunoglobulin
<b>INF</b>	interferon
<b>IP-10</b>	interferonom inducirani protein 10 (od engl. interferon-inducible protein 10)

<b>KBC</b>	klinički bolnički centar
<b>L</b>	leukociti
<b>PCR</b>	lančana reakcija polimeraze (od engl. polymerase chain reaction)
<b>PRNT</b>	neutralizacijski test redukcije plakova (od engl. plaque reduction neutralisation test)
<b>PUUV</b>	virus Puumala
<b>RH</b>	Republika Hrvatska
<b>RANTES</b>	kemokin RANTES ( od engl. regulated upon activation, normal T expressed and secreted)
<b>RNK</b>	ribonukleinska kiselina
<b>RTG</b>	rentgenogram
<b>SAAV</b>	virus Saarema
<b>SAD</b>	Sjedinjene Američke Države
<b>SE</b>	sedimentacija eritrocita
<b>SEOV</b>	virus Seoul
<b>SNV</b>	virus Sin Nombre
<b>T3</b>	trijodtironin
<b>T4</b>	tiroksin
<b>TNF</b>	faktor tumorske nekroze (od eng. tumor necrosis factor)
<b>TSH</b>	tireotropin
<b>TULV</b>	virus Tula
<b>UN</b>	Ujedinjeni narodi
<b>UZV</b>	ultrazvuk
<b>VCAM</b>	vaskularna stanična adhezijska molekula (od engl. vascular cell adhesion molecule)
<b>VEGF</b>	vaskularni endotelni faktor rasta ( od engl. vascular endothelial growth factor)



## 1. UVOD

Virusne hemoragijske vrućice skupina su virusnih bolesti kojima su zajedničke pojava visoke temperature i vaskulitisa, zbog čega u većini slučajeva dolazi do krvarenja, hipovolemije, šoka, te do promjena u hematopoezi, središnjem živčanom sustavu, plućima, bubrezima i drugim organima (1,2). Od svih hemoragijskih vrućica najviše pozornosti izaziva hemoragijska vrućica s bubrežnim sindromom (HVBS) zbog svoje proširenosti i učestalosti infekcije. HVBS je virusna bolest koja je geografski rasprostranjena u širokom pojasu od Dalekog istoka (Japan, Kina, Koreja), preko Rusije i Balkana sve do Zapadne Europe i skandinavskih zemalja (3). HVBS je prirodnožarišna zoonoza i pojavljuje se sporadično u endemskim područjima svake godine, a epidemije nastaju u tzv. mišjim godinama kada je broj glodavaca najveći ili kada veći broj neimunih osoba uđe u prirodno žarište HVBS-a (4).

Prvi opisi HVBS-a potječu iz Koreje 1884. godine, a bolest je bila poznata pod imenom "Yempieng" (5). Veći broj hospitaliziranih zbog HVBS-a bilježi se u bolnici u Vladivostoku 1913. godine, a posebnu pozornost bolest izaziva pojavom više od 100 oboljelih u regiji Tula u europskom dijelu Rusije (5,6). Nakon Drugog svjetskog rata bolest je opisana u Skandinaviji pod nazivom "nephropathia epidemica" (7). Dugo vremena uzročnik HVBS-a nije bio poznat, samo se pretpostavljalo da bolest uzrokuje bakterija iz skupine diplokoaka ili leptospira. Razlike u načinu dobivanja infekcije i razlike u kliničkoj slici dovele su do zaključaka da bolest ipak nije bakterijske etiologije (8). Radovima Čumakova i suradnika pedesetih godina prošlog stoljeća dokazano je da se uzročnik HVBS-a nalazi u krvi i urinu akutno oboljelih od HVBS-a (9). Bez obzira na različite kliničke prezentacije i različitost u nazivima, Gajdušek je 1962. godine pretpostavio da se u svim zemljama radi o hemoragijskoj vrućici s bubrežnim sindromom s istim virusom uzročnikom bolesti (10). Tijekom 1951. godine vojnici ujedinjenih naroda koji su se borili sjeverno od 38. paralele u Koreji počeli su

obolijevati od akutne bolesti praćene visokom temperaturom, hemoragijskim manifestacijama i akutnom bubrežnom insuficijencijom. Do kraja iste godine bilo je 80 umrlih u tom području (11). Uzročnika HVBS-a su 1976. godine izolirali H. W. Lee i njegovi suradnici iz pluća korejskog poljskog miša (*Apodemus agrarius coreae*) i dobio je naziva Haantan virus. Antigen iz pluća inficiranih miševa reagirao je sa serumom akutno oboljelih od HVBS-a (12).

Dugo se vremena ova bolest nazivala različitim imenima, prema mjestu opisa bolesti ili životinji rezervoaru, dok nije konačno na sastanku eksperata Svjetske zdravstvene organizacije 1982. godine postignut dogovor da se bolest zove hemoragijska vrućica s bubrežnim sindromom (13).

Poseban zamah u istraživanju hantavirusa bilježi se nakon 1993. godine kada je u Americi otkriven hantavirusni kardiopulmonalni (HKPS) sindrom sa stopom smrtnosti većom od 50%. (14).

### **1.1. ETIOLOGIJA HVBS-a**

Hantavirusi su svrstani u porodicu *Bunyaviridae*, rod *Hantavirusa*, a unutar ove porodice nalazimo još četiri roda virusa: *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus* i *Tospovirus* (14, 15). Virusne čestice su sferična oblika, promjera približno 95 nm, s lipidnim omotačem. Hantavirusi su osjetljivi na deoksikolat i lipidna otapala (eter i kloroform), a temperatura od 56<sup>0</sup>C, ultravioletna svjetlost i pH vrijednosti niže od 5 relativno brzo ih inaktiviraju. Sasušeni hantavirusi iz stanične kulture mogu preživjeti nekoliko dana na sobnoj temperaturi, a iz izlučevina glodavca oko dva tjedna (16). Replikacija virusa odvija se u citoplazmi inficiranih stanica, a morfogeneza uključuje pupanje, prvenstveno u Golgijevu tjelešcu. Genom virusa čine tri segmenta jednolančane ribonukleinske kiseline (RNK), koji su po analogiji s ostalim pripadnicima porodice *Bunyaviridae* označeni s L (veliki, od engl. large), M (srednji, od engl. medium) i S (mali, od engl. small), s molekularnom težinom od 2,7x10<sup>6</sup>,

$1,2 \times 10^6$  i  $0,6 \times 10^6$  daltona. Segmenti RNK-a su negativnog polariteta, formiraju nekovalentno vezanu cirkularnu strukturu i na svom kraju imaju konzerviranu nukleotidnu sekvenciju koja je zajednička za sve izolate. Genetski međuodnosi odraz su njihovih antigenskih svojstava, iako je teško uspostaviti izravnu korelaciju između genskih i antigenskih svojstava. Pretpostavlja se da test redukcije, neutralizacijski test redukcije plakova (PRNT, od engl. plaque reduction neutralisation test) određuje razlike u proizvodima segmenta M (glikoproteini ovojnice G1 i G2). Usporedba aminokiselinskih sekvencija G1 i G2 može stoga pokazati genske i antigenske različitosti među hantavirusima (15,16,17). Nukleokapsidni antigen i glikoproteini induciraju imunološki odgovor u domaćinu (18). Kronično, i vjerojatno bez simptoma, inficirani glodavci mogu mjesecima izlučivati virus urinom, slinom i fecesom. Serološka i genska povezanost i koevolucija hantavirusa i njihovih domaćina razvijala se tijekom stoljeća. Međutim, zadnjih godina objavljeni su radovi koji opisuju pojavu pojedinih hantavirusa u rezervoarima u kojima ih uobičajeno ne nalazimo, kao npr. virus Dobrava (DOBV) u *Apodemus agrariusu* (19).

## **1.2. EPIDEMIOLOGIJA HVBS-a i HKPS-a**

### **1.2.1 DISTRIBUCIJA HANTAVIRUSA**

Serološka i epidemiološka istraživanja potvrdila su postojanje hantavirusa širom svijeta. Njihovi prirodni rezervoari su mišoliki glodavci u kojih se bolest javlja, koliko je do sada poznato, u obliku asimptomatske infekcije. Bolest se javlja sporadično ili u obliku manjih ili većih epizootija u endemskim područjima s vegetacijom i klimatskim uvjetima koji pogoduju životu i razmnožavanju mišolikih glodavaca (14). U Aziji se bolest opisuje u Japanu, dalekoistočnim područjima Rusije (20), Koreji (12), Kini (21), Tajlandu (22), Indiji (23) i u još nekoliko zemalja (24). HVBS se spominje u dalekoistočnim područjima Rusije od početka prošlog stoljeća. To područje poznato je i po velikom broju izoliranih hantavirusa

(Topografov, Khabarovsk) od kojih samo neki izazivaju bolest (Amur, Haantan, Seoul), a pridaje im se pozornost zbog kroničnih posljedica nakon preboljelog HVBS-a (24). Najviše oboljelih bilježi se u Kini zbog njezine veličine i napućenosti (21). Od europskih zemalja najveća učestalost HVBS-a je u Rusiji, s 3000 slučajeva godišnje, potom u Finskoj s 1000 slučajeva, a u Švedskoj se bilježi oko 300 slučajeva godišnje. Od ostalih europskih zemalja bolest je široko rasprostranjena od Francuske na zapadu do Rusije na istoku te od Estonije na sjeveru do Grčke na jugu (25). Od zemalja u našem okruženju HVBS je najčešći u Bosni i Hercegovini koja je proglašena endemskim područjem HVBS-a u Europi (26). Bolest se opisuje i u Crnoj Gori, gdje se najviše javlja tijekom ljeta kada ljudi često zalaze u šumska i druga prirodna žarišta ove zoonoze. Na istoku Hrvatske uz granicu sa Srbijom poznato je prirodno žarište HVBS-a u području Fruške gore (27). Bolest se također opisuje u Mađarskoj, a najnovija istraživanja govore o pojavi virusa Saarema (28). S naše zapadne granice nalazi se Slovenija u kojoj se također bilježe hantavirusne infekcije, a to područje najpoznatije je po otkriću novog soja hantavirusa Dobrava (29,30).

O pojavnosti hantavirusnih infekcija u Africi svjedoči se uglavnom po prisutnosti specifičnih protutijela na hantaviruse (Egipat) (31) iako su opisivani i slučajevi infekcije hantavirusom u centralnoj Africi (24). U SAD-u već od prije 1993. godine postoje dokazi o hantavirusnim infekcijama, ali ta je godina prekretnica zbog izbijanja hantavirusnoga kardiopulmonalnog sindroma (HKPS) kojeg je najpoznatiji uzročnik virus Sin Nombre, a poslije su otkriveni mnogi drugi virusi genetski vrlo srodni ovome virusu (32,33). Od svih hantavirusa koji izazivaju HKPS jedino za virus Andes postoje dokazi da se širi s osobe na osobu (34).

### 1.2.2. REZERVOARI HANTAVIRUSA I NAČIN PRIJENOSA

Rezervoari hantavirusa su mišoliki glodavci, među kojima se virus održava kao tiha enzootija. Virus se među glodavcima širi horizontalnom transmisijom, najčešće aerosolom za vrijeme međusobnih borbi, a među štakorima i kanibalizmom. Najčešći rezervoari virusa Haantan su poljski miš (*Apodemus agrarius*) i žutogrli miš (*Apodemus flavicolis*), virusa Puumala riđa voluharica (*Myodes glareolus*), a virusa Seoul crni štakor (*Ratus ratus*) i štakor selac (*Ratus norvegicus*) (35). Virus Dobrava izoliran je iz žutogrlog miša u Europi i opisan 1995. godine (30). Genski srodan virus izoliran je iz *Apodemus agrarius* na otoku Saaremaa u Estoniji (36). U Europi kruže četiri serotipa hantavirusa: Dobrava (DOBV), Pumala (PUUV), Saaremaa (SAAV) i Tula (TULV), a dokazan je u nekoliko slučajeva infekcije virusom Seoul (SEOV) (37). Infekcije virusom Dobrava dokazane su 1995. godine u grčkih bolesnika s HVBS-om (38).

U Hrvatskoj je PUUV i DOBV dokazan u ljudi tijekom velike epidemije HVBS-a 1995. godine (39), a SAAV iz poljskog miša (*A. Agrarius*) (28).

Izravna izloženost glodavcima i njihovim izlučevinama nosi najveći rizik od inficiranja hantavirusima. Virus se izlučuje u vanjsku sredinu mokraćom, fecesom i slinom malih sisavaca (40). Detaljnija distribucija rezervoara hantavirusa prema Heymanu i suradnicima prikazana je u tablici 1 (37).

Tablica 1. Distribucija i rezervoari patogenih hantavirusa prema Heymanu i suradnicima

Hantavirus	Domaćin	Bolest	Geografska distribucija
Porodica <i>Cricetidae</i> potporodica <i>Arvicolinae</i>			
Puumala	<i>Myodes glareolus</i>	HVBS	Europa
Tula	<i>Microtus arvalis</i>	HVBS	Europa
Porodica <i>Cricetidae</i> potporodica <i>neotominae</i>			
Sin Nombre	<i>Peromyscus maniculatus</i>	HKPS	Sjeverna Amerika

New York	<i>Peromyscus leucopus</i>	HKPS	Sjeverna Amerika
Porodica <i>Cricetidae</i> potporodica <i>Sigmodontinae</i>			
Andes	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	HKPS	Južna Amerika
Bayou	<i>Oryzomys palustris</i>	HKPS	Sjeverna Amerika
Black Creek Canal	<i>Sigmodon hispidus</i>	HKPS	Sjeverna Amerika
Cano Delgadito	<i>Sigmodon Alstoni</i>	HKPS	Južna Amerika
Muleshoe	<i>Sigmodon hispidus</i>	HKPS	Sjeverna Amerika
Bermejo	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	HKPS	Južna Amerika
Lechiguanas	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	HKPS	Južna Amerika
Oran	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	HKPS	Južna Amerika
Colco	<i>Oligoryzomys fluvescens</i>	HKPS	Sjeverna i Južna Amerika
Calabazo	<i>Zygodontomys brevicauda</i>	HKPS	Južna Amerika
Araraquara	<i>Bolomys lasiurus</i>	HKPS	Južna Amerika
Porodica <i>Muride</i> , potporodica <i>Murinae</i>			
Hantaan	<i>Apodemus agrarius</i>	HVBS	Azija
Seoul	<i>Rattus norvegicus</i>	HVBS	Azija, Europa, Amerika
Dobrava	<i>Apodemus agrarius</i>	HVBS	Europa
Amur	<i>Apodemus peninsulae</i>	HVBS	Azija
Saarema	<i>Apodemus agrarius</i>	HVBS	Europa

U Sjevernoj i Južnoj Americi rezervoari hantavirusa su glodavci iz porodice *Cricetidae*, a među najpoznatijima su *Peromyscus maniculatus*, domaćin virusa Sin Nombre, te *Olygoryzomys longicaudatus*, domaćin virusa Andes (40)

U jugozapadnom dijelu SAD-a pronađena su antitijela na hantaviruse uzročnike HKPS-a u mačaka (2,8%) i pasa (4,8%), te sporadično u serumu konja, koza i kojota, no nije do sada dokazano da su ove životinje nosioci virusa ili da ga mogu prenijeti na čovjeka (40).

### 1.2.3. POJAVNOST HVBS-a U VOJNIM POSTROJBAMA TIJEKOM POVJESTI

Postoje indicije da bi opisi bolesti u prvom tisućljeću u Kini te u srednjem vijeku u Engleskoj mogli odgovarati HVBS-u (41). Hantavirusi se smatraju mogućim uzročnicima "trench nephritis-a" u Američkom građanskom ratu 1862/63. godine (42). Povijesni podaci sugeriraju da je "trench nephritis" tijekom Prvog svjetskog rata mogao biti izazvan hantavirusom (43). Japanski liječnici opisuju bolest sličnu HVBS-u tijekom okupacije Mandžurije od 1935. do 1944. godine (44). Tijekom sukoba njemačkih i finskih postrojbi na Laplandu 1942. godine oboljelo je više od 10 000 vojnika od febrilne bolesti s bubrežnom simptomatologijom koja je bila slična leptospirozi, a sama leptospiroza bila je serološki isključena (8). Također, tijekom Drugog svjetskog rata obolijevali su njemački i drugi vojnici na Balkanu od febrilne bolesti praćene bubrežnom simptomatologijom, za koju se pretpostavlja da bi mogla biti HVBS (45). Tijekom Korejskog rata 1951./52. godine od HVBS-a je oboljelo više od 10.000 američkih i korejskih vojnika; febrilna bolest bila je praćena bubrežnim zatajenjem, hemoragijama i šokom, uz letalitet koji se kretao oko 10% (11).

Tijekom Domovinskog rata na prostorima Hrvatske i Bosne i Hercegovine oboljelo je dosta vojnika od HVBS-a, a osobito 1995. godine kad je oboljelo više od 500 osoba, uglavnom vojnika (26, 46). HVBS je vjerni pratilac većine vojnih vježbi i manevara koji se održavaju u endemskim područjima hemoragijske vrućice. Tako se bilježe slučajevi inficiranja u Koreji (47), Grčkoj (38) i Njemačkoj (48).

Posebno je važno u vojnim postrojbama provoditi protuepidemijske mjere:

a) Pri odabiru mjesta boravišta valja utvrditi ima li naznaka postojanja hodnika ili nadzemnih humaka koji govore o prisutnosti glodavaca; potrebno je ustanoviti ima li u okolici izmeta glodavaca ili polegnute trave, ima li šupljih debela, trule drvene građe, hrpa kamenja, suhozida ili pećina. Ako se utvrdi navedeno, onda se takva lokacija u načelu ne odabire za izgradnju baraka, postavljanje šatora ili spremnika;

- b) Zabranjeno je koristiti prije sagrađene spremnike ili skloništa bez prethodnog čišćenja ili pojačane dezinfekcije;
- c) Kod izgradnje baraka, postavljanja šatora ili spremnika na određenom prostoru valja izvršiti sanitaciju šireg prostora smještaja (taborišta) te okolicu očistiti od niske trave ili raslinja;
- d) Ako se izgrade drvene barake za boravak ljudi, potrebno je začepiti sve rupe šire od 6 mm u promjeru jer kroz njih mogu prolaziti mali glodavci, a sukladno nagonu glodavaca za sinantropijom treba izvršiti ograničenu deratizaciju postavljanjem krutih mamaka u baraci i oko nje;
- e) Ležajeve treba podignuti 30 cm iznad zemlje (po mogućnosti to treba biti poljski krevet), a ako se postavljaju šatori, moraju imati drveni pod;
- f) Hranu valja držati u metalnim ili plastičnim spremnicima koji nisu dostupni glodavcima. Otpatke treba odlagati u za to predviđene spremnike postavljene što dalje od boravišta. Ako se odlažu na spremišta, treba koristiti prikrivajuće dezinficijense zbog uklanjanja privlačnih mirisa za glodavce;
- g) Treba koristiti samo higijenski ispravnu vodu;
- h) Ako se glodavci pojave u boravištu, valja provesti hitnu deratizaciju pomoću deratizacijskih kružnih barijera okoliša i boravišta te provoditi stalne mjere dezinfekcije i eventualne dezisenkcije;
- i) Kod hodnje postrojbi nisu potrebne mjere dezinfekcije, dezisenkcije i deratizacije (DDD), ali kod izgradnje taborišta, statične crte obrane ili izrade podzemnih uporišta treba preventivno izvršiti deratizaciju u krugu 50 m. Kod napučivanja već napuštenih prostora valja obaviti sustavnu dezinfekciju i dezisenkciju (49,50).



#### 1.2.4. RIZIČNE SKUPINE

U najrizičnije skupine spadaju vojnici, šumski radnici, poljodjelci, izletnici, jednom riječju, osobe koje su u stalnom kontaktu s prirodom i dolaze u izravan dodir s izlučevinama glodavaca. Provođenje higijensko-epidemioloških mjera među rizičnim skupinama od velike je važnosti u endemskim područjima. Tijekom rata (1991.-95. god.) na prostorima bivše Jugoslavije dogodilo se nekoliko epidemija među vojnicima, a osim toga što su ratna djelovanja onemogućavala adekvatno provođenje higijensko-epidemioloških mjera, nastanku infekcija pogodovao je i ulazak vojnika koji prije nisu bili u kontaktu s hantavirusima u prirodna žarišta HVBS-a (4, 26, 39, 46, 50-54). U radu Hukićeve i suradnika opisana je epidemija s više od 300 oboljelih vojnika u sjeveroistočnoj Bosni (26). Nisu hantavirusi bili opasnost samo za vojnike tijekom rata na prostorima Hrvatske, Bosne i Hercegovine i Kosova, nego i za izbjeglice koji su se smještali u izbjegličke kampove. Procijenjeno je da postoji opasnost obolijevanja od HVBS-a za izbjeglice s Kosova koji su bili smješteni u Makedoniji, Albaniji i Crnoj Gori, ali i od kongo-krimske hemoragijske vrućice. Srećom zabilježenih epidemija među tom rizičnom skupinom nije bilo (56).

Kina je zemlja s najvišim brojem prijavljenih slučajeva HVBS-a godišnje. Najčešći rezervoar infekcije izvan kuće je poljski miš, a u kući štakor selac (*Ratus norvegicus*) (21). Rizični čimbenici za inficiranje ispitanika u Kini bili su: konzumiranje zaražene hrane, putovanje u druga područja na poljodjelski rad, izravan kontakt s glodavcima, kampiranje u žitnim poljima, slaganje stogova slame ispred kuće te držanje mačke u kući. Omjer manifestnih prema inaparentnim infekcijama HVBS-a u Kini je bio 1:5,4 do 1:14 (57).

Vojnici su u svakom slučaju među najizloženijim rizičnim skupinama. Rađena su istraživanja kako bi se definirali epidemiološki čimbenici koji najviše pridonose pojavi HVBS-a u vojnika tijekom vojnih vježbi i ratnih operacija. Tako su Dixon i suradnici pronašli da od HVBS-a više oboljevaju vojnici koji borave u primitivnim nastambama, oni koji su vidjeli glodavce u

boravištu, koji su koristili prirodnu prikrivku, te navode prisutnost prašine u boravištu (49). U istraživanju epidemije na planini Dinari 1995. godine, među vojnicima koji su oboljeli od HVBS-a, utvrđeno je da su boravak u drvenim barakama, vidljiva prisutnost glodavaca unutar boravišta, boravak u biotopu šume, korištenje prirodne prikrivke i pripadnost vojnika rodu topništva čimbenici rizika za infekciju hantavirusima (50).

Pon i suradnici su nakon zaražavanja 14 američkih marinaca u regiji Uncheon u Koreji 1986. godine napravili epidemiološki upitnik o vanjskim utjecajima, navikama vojnika i vremenskim uvjetima koji pogoduju zaražavanju vojnika hantavirusima. Obradom upitnika nisu definirani rizični čimbenici za stjecanje infekcije kao u dva prethodno opisana istraživanja (47). Osim higijensko-epidemioloških i socijalnih rizika za obolijevanje od HVBS-a, postoje i neki čimbenici rizika vezani uz genske predispozicije.

U radovima o predispoziciji pojedinih osoba za stjecanje epidemijske nefropatije ističe se da varijabilnost gena igra značajnu ulogu. Tako odstnost IL-1RA alela 2 i IL-1 $\beta$  alela 2 utječe na stjecanje epidemijske nefropatije (EN). Nadalje, izgleda da je polimorfizam tumorskog faktora nekroze (TNF) povezan s ishodom EN (56).

### **1.3 PATOGENEZA**

Patogenza HVBS-a još je nedovoljno istražena zbog nedostatka modela laboratorijskih životinja. Pokušaji inficiranja zamoraca, bijelih miševa, štakora i majmuna krvlju i urinom bolesnika nisu dali pozitivne rezultate. Stoga se izučavanje patogeneze izvodilo putem kliničkih i patoanatomskih promatranja (58). Već u prvim godinama izučavanja HVBS-a pokazalo se da su patomorfološke promjene najizraženije na stijenkama krvnih žila. Većina autora je smatrala da virus ima izravno vazotropno djelovanje na endotel krvnih žila. Nedavno je potvrđeno i kako se virus replicira u endotelnim stanicama. Povećana količina proupalnih citokina i kemokina koje stvaraju inficirani monociti i makrofagi također privlači citotoksične

limfocite i makrofage u upalno područje i dodatno oštećuje endotelne stanice (59). Inficiranje stanične kulture virusom Haantan (HTNV) i virusom Sin Nombre (SNV) ne dovodi do izravne razgradnje endotelnih stanica, što govori u prilog opažanju da, osobito u HKPS-u, imunološki posredovani mehanizmi dovode do poremećaja vaskularne permeabilnosti. Na okolne imunološke reakcije i proinflammatornu aktivaciju vaskularni endotel reagira izravnim imunim odgovorom. To rezultira lokalnim otpuštanjem citokina, kemokina i adhezijskih molekula koje potpomažu u regrutaciji imunocita na mjesto ozljede. Infekcija endotelnih stanica HNT virusom *in vitro* inducira ekspresiju kemokina, RANTES i IP-10 u endotelnim stanicama (60). Još je prije deset godina u akutnom stadiju HVBS-a utvrđeno oštećenje endotelnih stanica u bubrežima, oštećenje bazalne membrane i oštećenje perivaskularnih glatkih mišića. Nema pouzdanih dokaza da dolazi do ruptуре bazalne membrane i na taj način do dijapedeze krvi iz sitnih krvnih žila (61).

Bubrežna biopsija u bolesnika u akutnom stadiju HVBS-a pokazuje izravnu invaziju renalnih tubula hantavirusom. Bojenje bubrežnog bioptata u bolesnika s avidin-biotin-peroksidaza kompleksom s monoklonalnim protutijelima za G1 i G2 glikoprotein lokalizira virusne glikoproteine u epitelnim stanicama tubula (62).

Imunohistokemijske studije u bubrežima oboljelih od HVBS-a pokazuju infiltraciju intersticija mononuklearnim stanicama te kapilarnu kongestiju i hemoragiju. Najčešća histopatološka slika u HVBS-a je akutni tubulointersticijski nefritis. Hipercelularnost i proširenje mezangija povezani su sa značajnom proteinurijom. Tubularna, intersticijska i glomerulska histološka lezija izravno su povezane sa stupnjem bubrežne insuficijencije. Bubrežna biopsija u akutnom stadiju HVBS-a pokazuje hemoragije u medularnom intersticiju, upalnu infiltraciju u kortikalnom intersticiju, umjeren otok epitelnih stanica Bowmanove parijetalne i visceralne kapsule. Nadalje, na histopatološkim preparatima pokazano je mjestimično stanjivanje bazalne membrane glomerularnih kapilara. Bilježi se

umjerena tubularna degeneracija i infiltracija intersticija limfocitima (od čega su 70% T-limfociti). Utvrđene su u mezangiju i granule sastavljene od IgA, IgG C3, C1q i fibrinogena, što sve podsjeća na glomerulonefritis u prolazu (58-62).

### 1.3.1 IMUNOLOGIJA HVBS-a I HKPS-a

Infekcija HTNV-om i SNV-om dovodi do aktiviranja antigen specifičnih T-stanica u primarnim i sekundarnim limfoidnim organima. Tijekom ovog inkubacijskog razdoblja virusna infekcija endotelne stanice rezultira visokom razinom RANTES-a i IP-10 koji privlače aktivirane T-limfocite koji naseljavaju postkapilarne prostore. Aktivirani T-limfociti i RANTES te IP-10 i  $\text{INF}\gamma$  dovode do još većeg aktiviranja T-limfocita i upalnog odgovora. S obzirom na navedeno, infiltracija u plućima u HKPS-u sastoji se prvenstveno od limfocita, za razliku od adultnog respiratornog distres sindroma (ARDS) u kojem su to mononukleari i polimorfonukleari (63).

Činjenica da patogeni i apatogeni hantavirusi inficiraju, ali ne razaraju vaskularni endotel, upućuje na to da je odgovor endotelne stanice središnji događaj u razvoju HVBS-a i HKPS-a. Podaci dobiveni pomoću DNK i real-time PCR testova sugeriraju da HTNV izaziva jedinstveni niz aktivacije imunoloških stanica i dodatni odgovor uključuje VCAM (engl. vascular cell adhesion molecule-1, CD106), ICAM (engl. intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1 CD54) i E-selektin. Budući da je HVBS na kraju označen kao imunološka bolest, endotelijalni odgovor može imati važnu ulogu u ukupnom imunološkom odgovoru (64).

Postoje naznake da stvaranje imunokompleksa može imati ulogu u nastanku oštećenja endotelne stanice u zidu krvnih žila. Histopatološki se uočava kapilarna prepunjenost s dijapedezom eritrocita kroz stijenku kapilara, a u bubregu su edem i medularna hemoragija udruženi s tubularnom lezijom (65).

Unatoč tome što patogeneza vaskularnog, posebno kapilarnog oštećenja nije do kraja razjašnjena, primijećeno je da su endotelne stanice glavne ciljne stanice kod eksperimentalno inficiranih miševa Hantaan virusom (66). Diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK) je česta pojava u HVBS-u i u korelaciji je s težinom kliničke slike, te povećava mogućnost hemoragije i ishemije u akutnoj fazi HVBS-a. Kronične komplikacije HVBS-a kao hipertenzija ili proteinurija mogu se dijelom smatrati posljedicom DIK-a i ishemije u akutnoj fazi bolesti (67).

Aktivacija klasičnog puta komplementa u HVBS bolesnika ukazuje na to da su imunokompleksi važni u patogenezi HVBS-a. Stupanj aktivacije komplementa veći je u fazi šoka, tijekom kojeg se javlja najviša koncentracija imunokompleksa, a vaskularno oštećenje je najveće (65). Prvih nekoliko dana bolesti javljaju se IgM protutijela, a IgG protutijela pojavljuju se tek u drugom tjednu bolesti. Smatra se da protutijela blokiraju adsorpciju i ulazak virusa u ciljne stanice i sprječavaju širenje virusa na nove ciljne stanice (68).

## **1.4. KLINIČKA SLIKA**

### **1.4.1. KLINIČKA SLIKA HVBS-a**

Klinički tijek HVBS-a prije svega ovisi o serotipu virusa koji je izazvao bolest. Prvi i najdetaljniji opisi HVBS-a potječu od bolesnika inficiranih virusom Hantaan, koji izaziva najčešće teške oblike bolesti u području Azije. Slično, u Europi srednje teške i teške kliničke slike uobičajeno izaziva DOBV, koji je genski srodan virusu HTN. Infekcije ovim tipovima virusa često imaju pet prepoznatljivih faza: a) febrilna, b) hipotenzivna, c) oligurijska, d) poliurijska i e) rekonvalescentna faza.

#### Febrilna faza:

Karakterizirana je naglim početkom, visokom temperaturom od 38,5 do 40 °C, remitentnog karaktera, a prate je malaksalost, anoreksija, mijalgije, vrtoglavica i sljepoočna glavobolja.

Rjeđi je postupan početak s povišenjem temperature do 38<sup>0</sup>C. Bolesnik se tuži na suhoću grla i grlobolju, lice i vrat su hiperemični, kao i konjunktive. U nekih bolesnika zamjećuju se epistaksa i sitna konjunktivalna krvarenja kao znakovi hemoragijskog sindroma. U teškim slučajevima, zbog povećanog permeabiliteta kapilara i ekstravazacije plazme, nastaje retroperitonealni i peritonealni edem, što uzrokuje palpatornu osjetljivost trbuha ili bolove u lumbalnim ložama.

Jetra je povećana u najvećem broju slučajeva, a slezena rijetko. Kod malog broja bolesnika javljaju se povraćanje, nesanica, a ponekad je prisutan i meningizam.

#### Hipotenzivna faza:

Razvija se naglo od petog do osmog dana bolesti i traje od nekoliko sati do tri dana. U ovoj fazi moguć je i razvoj šoka s tahikardijom, slabim perifernim bilom i hipotenzijom, hladnom i preznojenom kožom, te poremećajem sensorija. Najčešće se krvni tlak normalizira, ali je u teškim slučajevima moguć nastanak ireverzibilnog šoka. Oko 1/3 smrtnih ishoda nastupa u ovoj fazi.

#### Oligurijska faza:

Ovo razdoblje razvija se između devetog i dvanaestog dana bolesti. Dolazi do sniženja temperature uz povraćanje i bolove u lumbalnim ložama. Osim toga, s razvojem bubrežne insuficijencije, u nekih bolesnika javljaju se bolovi u trbuhu, meteorizam, a ponekad pareza crijeva i elektrolitski debalans. Lice je zacrvenjeno, uz hiperemiju konjunktiva.

Od hemoragijskih manifestacija najčešća je epistaksa koja ponekad zahtijeva tamponadu. Mikrohematurija je redovita pojava, a ponekad nastupi i makrohaturija, kao i krvarenja iz gastrointestinalnog trakta. Pojavljuje se petehijalni kožni osip na prsnom košu, nadlakticama i podlakticama, a na mjestu davanja injekcija stvaraju se hematomi. U drugoj polovici oliguričkog razdoblja razvijaju se konjunktivalna krvarenja u području sklera, koja se ponekad šire na konjunktivu očne jabučice, pa oči izgledaju poput crvene višnje. Zbog

visokih vrijednosti serumskog kalija nađe se izmijenjen T-zubac na EKG-u. U bolesnika s najizraženijom bubrežnom lezijom prisutan je tjestasti otok lica, a znak Pasternackog kod većine bolesnika je pozitivan s obje strane. Često je smanjena oštrina vida (2, 45, 46, 69).

#### Diuretska faza:

Između 13. i 21. dana bolesti prestaje povraćanje, iščezavaju bolovi u križima, normalizira se san i uspostavlja apetit. Diureza se uspostavlja i doseže do šest litara, zbog čega je moguć brzi razvoj dehidracije. Nakon faze poliurije nastupa faza rekonvalescencije.

#### Rekonvalescentna faza:

Ova faza može trajati i do nekoliko mjeseci. U njoj dolazi do normalizacije laboratorijskih nalaza, normalizira se diureza.

Komplikacije tijekom HVBS-a javljaju se ovisno o stupnju težine bolesti. Uremička koma razvija se kao terminalni stadij bubrežne insuficijencije. U bolesnika dolazi do povraćanja, štucanja, gađenja na hranu i rasta razine dušičnih spojeva u organizmu. Poslije se javlja pospanost, a neznatan broj bolesnika ima znakove meningoencefalitisa. Edem pluća je posljedica hipervolemije. Teška komplikacija s lošom prognozom je toksički ili hemoragijski šok. Česta su krvarenja u kapsuli bubrega i nedbubrežnoj žlijezdi, a moguća su i krvarenja u miokardu (70).

#### 1.4.2. LIJEČENJE:

Liječenje bolesti je složeno zbog njezina tijeka u kojem se pojavljuju hipotenzija i hipertenzija, te oligurija i poliurija. Terapija mora biti pažljivo usklađena s bolesnikovim statusom hidracije, iznosom diureze i bubrežnom funkcijom. Bubrežna insuficijencija, koja je ponekad povezana s jakom retencijom tekućine i plućnim edemom, zahtijeva hemodijalizu.

Za kupiranje bolova preporučuje se paracetamol, dok druge antiinflamatorne lijekove treba izbjegavati. Hemodijaliza korigira elektrolitski poremećaj, smanjuje preopterećenje

tekućinom uz smanjenje hipotenzije, smanjuje rizik od edema pluća, gastrointestinalnih i cerebrovaskularnih hemoragija, te poboljšava funkciju trombocita. Provođenjem hemodijalize smrtnost teških oblika smanjena je s 30 % na 5-10%.

U rijetkim slučajevima izrazite trombocitopenije potrebna je nadoknada koncentriranim trombocitima. Kontrolirane studije u Kini pokazale su da rana primjena ribavirina može reducirati mortalitet i smanjiti jačinu simptoma (71). Slična studija provedena je u posljednjih deset godina u bolnici Berane u Crnoj Gori gdje je zabilježeno da davanje ribavirina u ranoj fazi HVBS-a brzo dovodi do drastična smanjenja ionako već smanjenih trombocita. Nakon prestanka terapije ribavirinom, trombociti se kod onih bolesnika koji su ga primali brže vraćaju u normalne vrijednosti nego kod bolesnika koji ga nisu primali. Pet bolesnika u istoj studiji koji su primali ribavirin razvilo je srednje tešku kliničku sliku bolesti, a srednje vrijednosti ureje i kreatinina bile su niže nego u bolesnika koji nisu primali ribavirin (72).

### **1.5. HVBS U HRVATSKOJ**

Prvi opis HVBS-a u Hrvatskoj dali su Radošević i Mohaček 1954. godine koji su opisali četiri bolesnika s epidemijom nefropatijom, tada nazvanom *nephropathia epidemica Myhrman-Zetterholm* (73). Prvi prepoznati slučajevi HVBS-a u Hrvatskoj pojavljuju se sporadično, pa je stoga valjalo diferencijalno dijagnostički uzeti u obzir sve bolesnike s nejasnim febrilnim stanjima i bubrežnom simptomatologijom. U proljeće 1967. godine pojavila se prva opisana epidemija HVBS-a u Hrvatskoj na Plitvicama među šumskim radnicima koji su koristili davno prije izgrađene barake. Etiologija bolesti je tada ostala neprepoznata. Serološko pretraživanje 13 godina poslije pokazalo je da su bolest izazvali virusi slični PUUV ili HTNV (74). Tijekom 1989. godine zabilježena je epidemija među vojnicima u blizini zračne luke Pleso, pokraj Velike Gorice, s 14 oboljelih (75,76). Istodobno



se je javila epidemija i u Hrvatskoj susjednim područjima, s ukupno 226 hospitaliziranih na području tadašnje Jugoslavije (76).

Tijekom 1992. godine pojavila se nova ograničena epidemija među pripadnicima Hrvatske vojske (HV) u području Novske, što je ukazivalo na postojanje do tada nepoznatih epidemijskih žarišta HVBS-a diljem Hrvatske (5146). Osim prije spomenutih epidemija, Borčić i suradnici su do 1990. godine zabilježili 36 sporadičnih slučajeva bolesti na sljedećim lokalitetima: Velika Gorica, Zagreb (Sljeme), Zagreb (grad), Dugo Selo, Zaprešić, Zelina, Donja Stubica, Jastrebarsko, Krapina, Vrbovec, Samobor, Novska, Pakrac (Psunj), Požega, Vinkovci, Osijek, Slunj, Korenica, Delnice, Ogulin, Gorski kotar, Rijeka (Platak) i Crikvenica (Bribir) (4).

Tijekom 1995. godine zabilježena je velika epidemija HVBS-a među vojnicima Hrvatske vojske. Tada je Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo ukupno prijavljeno 125 oboljelih. Bolest se pojavila istodobno na nekoliko lokaliteta (Mala Kapela, Dinara, zapadna Slavonija), a svi oboljeli bili su pripadnici HV-a. Ova nova prirodna žarišta upozorila su na širenje epidemije s poznatog ogulinskog područja na šire ličko područje, te na područje zapadne Slavonije (46). Žarište na Dinari bilo je novootkriveno području u kojem je oboljelo 66 vojnika (46). Glavni nosioci hantavirusa u Hrvatskoj bili su sljedeći glodavci: žutogrli šumski miš (*Apodemus flavicollis*), šumski miš (*Apodemus sylvaticus*), riđa voluharica (*Myodes glareolus*) i poljski miš (*Apodemus agrarius*) (46,53).

Osim "domaćih" vrsta glodavaca, Hrvatska ima mogućnost razmjene glodavaca preko dugačke granice s Bosnom i Hercegovinom koja je jedno od najvećih žarišta HVBS-a u Europi, te manjim dijelom sa Slovenijom, Srbijom i Crnom Gorom (27,52).

Godine 2002. u Hrvatskoj je zabilježena najveća epidemija HVBS-a s 401 oboljelim, od kojih je jedan bolesnik umro. Izbijanju epidemije pogodovala je godina bogata plodovima bukve i hrasta, iako je prethodna zima bila hladna što je obično popraćeno velikim pomorom

glodavaca (77-80). Ova epidemija pokazala je da je, s izuzetkom dalmatinske obale i otoka, gotovo cijela Hrvatska endemsko područje HVBS-a. Bolest se najprije pojavila u zajednici liječenih ovisnika u Ivanovcu kod Nove Gradiške, te je zahvatila požeško područje, brodsku Posavinu, virovitičku Podravinu, osječko i vinkovačko područje, bjelovarsko i sisačko područje i preko Gorskog kotara proširila se na područje Kvarnera (78,81). Zanimljivo je pojavljivanje HVBS-a u priobalnim područjima Istre i Kvarnera, dok ga u priobalnim područjima Dalmacije nema. Biotop priobalja sjevernog Jadrana obiluje bujnijom vegetacijom, veća je vlažnost, dok je dalmatinska obala krševita i oskudna vegetacijom. Za sada možemo pretpostaviti da biotop u Dalmaciji ne pogoduje razmnožavanju mišolikih glodavaca, nema podataka o inficiranosti mišolikih glodavaca, iako su prisutni u ovim područjima (82,83). Dakle, da bi došlo do pojavljivanja HVBS-a, treba biti zadovoljeno nekoliko čimbenika uključujući pogodan biotop, gustoću glodavaca i postojanje osnovnog domaćina rezervora pojedinih hantavirusa, a vjerojatno i brojnih drugih, za sada još nepoznatih uvjeta (77,80).

## **1.6. KRONIČNE POSLJEDICE HANTAVIRUSNIH INFEKCIJA**

Još prije petnaestak godina smatralo se da nakon preboljelog HVBS-a nastupa *restitutio ad integrum* i da bolest ne ostavlja nikakve kronične posljedice (84).

Iako rijetka, neka istraživanja ipak govore o povezanosti kroničnih bubrežnih bolesti i hipertenzije s infekcijom hantavirusima (HTNV, SEOV i PUUV), bez obzira radi li se o manifestnoj ili inaparentnoj hantavirusnoj infekciji. Prvi radovi, objavljeni o toj temi 1992. i 1993. godine u SAD-u, pokazali su povezanost hantavirusne infekcije s kroničnim posljedicama kao što su arterijska hipertenzija i kronično bubrežno oštećenje, te učestalije pojavljivanja cerebrovaskularnog infarkta. Ukupno je ispitano 1148 osoba s područja grada Baltimore, među kojima je bilo 15 seropozitivnih na virus sličan Haantanu. Samo u jednog

seropozitivnog ispitanika bila je pozitivna anamneza na moguću preboljelu hantavirusnu infekciju. Usporedbom sa 73 seronegativne zdrave kontrole nađena je statistički značajnija učestalost arterijske hipertenzije i kroničnog bubrežnog oštećenja. Nije bilo statističke razlike među spolovima i zanimanju ispitanika (85, 86). Još jedno istraživanje u New Yorku, dokazom specifičnih protutijela u ELISA-a testu potvrdilo je statistički značajno veću prevalenciju specifičnih protutijela na hantaviruse u grupi dijaliziranih bolesnika u odnosu na kontrolne ispitanike koji nemaju evidentnu bubrežnu bolest (87). Istraživanje prisutnosti protutijela na HTV u kroničnih bubrežnih bolesnika u Egiptu je niska i ne razlikuje se od zdravih ispitanika u kontrolnoj skupini (31). U Izraelu je nađena signifikantno veći postotak specifičnih protutijela za hantaviruse u bolesnika koji se liječe dijalizom i u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću u odnosu na zdrave kontrole (88).

Rubin i suradnici dokazali su smanjenu sposobnost koncentriranja urina u vojnika koji su u Korejskom ratu 1951./52. preboljeli HVBS. Oni su zabilježili da je 7/13 bolesnika razvilo hipostenuriju, a 2/13 hipertenzivnu bolest bubrega dvije do pet godina poslije oporavka od preboljelog HVBS-a. Također su isti autori naglasili i postojanje kroničnog glomerulonefritisa u 1/13 bolesnika i dva bolesnika s kroničnim pijelonefritsom. Isti autori su dokazali perzistentnu proteinuriju (s više od 150 mg proteina/dan), te učestalije urinarne infekcije, što je ove osobe dovodilo na bolničko liječenje. U hospitaliziranih vojnika koji su preboljeli HVBS zabilježili su i sklerotske promjene na krvnim žilama retine (89). Također u istraživanjima u Rusiji nađena je smanjena reapsorpcija natrija u 37,5% bolesnika koji su preboljeli HVBS (90). Kasnija istraživanja u Europi manje-više potvrđuju ova istraživanja (91-93). Naša preliminarna istraživanja (tri godine nakon akutne infekcije) pokazuju povezanost prethodne infekcije hantavirusima i preboljelog HVBS-a s arterijskom hipertenzijom, kroničnim bubrežnim, a u manjem postotku i s kroničnim jetrenim poremećajima (94).

Istraživanjima u Srbiji ustanovljeno je pojavljivanje hipopituitarizma u osoba koje su preboljele HVBS te autori savjetuju praćenje endokrinog statusa u ovih bolesnika (95). U susjednoj Sloveniji još prije dvadesetak godina Čižman i suradnici ustvrdili su da 18% osoba nakon preboljelog HVBS-a ima oštećenu tubularnu funkciju, 9% arterijsku hipertenziju i 9% kroničnu bubrežnu insuficijenciju (96). U istraživanju Tulumovića i suradnika 10 godina nakon preboljelog HVBS-a vrijednost glomerularne filtracije (iako u referentnim vrijednostima) bila je statistički značajno niža u onih koji su bili inficirani serotipom Dobrava nego u onih bolesnika koji su bili inficirani serotipom Puumala (97). Veći stupanj pozitivnih protutijela na hantaviruse zabilježen je 1993. godine u irskih bolesnika s terminalnom bubrežnom bolešću koji su liječeni dijalizom. Ovo istraživanje bila je neizravna potvrda prisutnosti infekcije hantavirusima u Irskoj (98). U Finskoj su 2009. godine objavljeni rezultati šestogodišnjeg praćenja bolesnika koji su preboljeli HVBS. Rezultati ovog praćenja nedvosmisleno pokazuju veće izlučivanje  $\alpha$ 1mikroglobulina u osoba s preboljelim HVBS-om, statistički značajniju učestalost proteinurije i značajno više vrijednosti krvnog tlaka nego u kontrolnih ispitanika. Ovi rezultati zajedno s prijašnjim istraživanjima u Finskoj potvrdili su veću stopu tubularne proteinurije, povišenu ekskreciju bjelančevina i više vrijednosti sistoličkog tlaka u osoba koje su preboljele HVBS (99,100).

Također, 2009. godine američki autori utvrdili su kronično bubrežno oštećenje u bolesnika koji su preboljeli hantavirusni kardiopulmonalni sindrom (HKPS). U osoba koje su preboljele HKPS zabilježili su veću učestalost proteinurije  $>150$  mg/dan, a gotovo polovica ispitanika imala je smanjenu stopu glomerularne filtracije ( $< 90$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>). Bolesnici koji su bili priključeni na ECMO (od engl. extracorporeal membrane oxygenation), iako se radilo o klinički najtežim bolesnicima, imali su manju stopu trajnih bubrežnih oštećenja. Smatra se da su trajna bubrežna oštećenja posljedica akutne ishemijske tubularne nekroze ili gubitka nefrona u akutnoj fazi. Hantavirusi povećavaju vaskularnu permeabilnost u akutnoj

fazi razaranjem uskih spojeva na glomerularnoj membrani. Dokazano je nakupljanje citotoksičnih T-limfocita uz endotel sitnih krvnih žila pluća tijekom HKPS-a, te također nakupljanje limfocita u blizini tubula bolesnika s HVBS-om. Oštećenje plućnog endotela u HVBS-a i bubrega u HKPS-a govori o preklapanju patogeneze između HVBS-a i HKPS-a. Smanjenje trajnih bubrežnih oštećenja u bolesnika koji su bili priključeni na ECMO možda ukazuje da odstranjivanje citokina i kemokina dovodi do manjeg bubrežnog oštećenja (101).

Istraživanje u Pima Indijanaca 1994. godine u području Arizone nije potvrdilo povezanost prisutnosti protutijela na SNV ili SEOV s kroničnom bubrežnom bolešću i dijabetesom (102).

Na područjima jugoistočne Europe pokušala se uspostaviti veza između balkanske nefropatije i preboljelog HVBS-a. Dosadašnji radovi nisu potvrdili te sumnje (103).

Kronične promjene na bubrezima nakon preboljelog HVBS-a dokazane su i na histopatološkim preparatima. Deset godina nakon preboljelog HVBS-a 34-godišnji drvosječa u Grčkoj razvio je arterijsku hipertenziju i zabilježene su mu povišene vrijednosti dušičnih spojeva u krvi. Biopsija bubrega pokazala je izbrisanu strukturu glomerula i stanjenje intime arteriola. Imunofluorescentni pregled bioptata pokazao je mjestimične nakupine IgM i C3 komponente komplementa koji su bili granularnog izgleda u tubulima bubrega i u mezangiju (104).

## **1.7. MARKERI ENDOTELNE DISFUNKCIJE**

Normalni endotel ima antiaterotrombotska svojstva kao što su nastajanje vazodilatacije, te inhibicija proliferacije stanica glatkog mišićja krvnih žila, tromboze i upalne aktivnosti. Većina ovih funkcija su posredovane otpuštanjem komponenti sa specifičnom biološkom svrhom kao što su: dušikov oksid, proteini koji sudjeluju u homeostazi i fibrinolizi, adhezijske molekule i selektini (105).

Disfunkcijom endotelnih stanica nazivamo rane promjene koje mogu dovesti do oštećenja zida krvnih žila u smislu povećane permeabilnosti, edema i nekroze (95). Osim hemodinamičkih promjena, toksičnog djelovanja lijekova, mehaničkih oštećenja, na ovu pojavu mogu utjecati upalna stanja pri kojima dolazi do povećane ekspresije adhezijskih molekula, lokalnog otpuštanja citokina, kemokina, faktora rasta i drugih medijatora upale koji potpomažu aktivaciju i migraciju polimorfonuklearnih stanica. Kao markeri i medijatori endotelne disfunkcije adhezijske molekule i faktori rasta, te drugi upalni faktori logičan su cilj za proučavanje endotelne disfunkcije. Ozljeda endotelnih stanica inicijalni je događaj koji vodi u promjenu oblika, povećanu permeabilnost, edem, hiperplaziju intime, nekrozu i okluziju sitnih krvnih žila. IL-8, VCAM-1 i ICAM-1 privlače leukocite na endotelne stanice. IL-1 i tumorski faktor nekroze alfa (TNF- $\alpha$ ) su potentni aktivatori za ELAM-1 (od eng. endothelial-leukocyte adhesion molecule) i VCAM koji mogu ojačati adheziju leukocita na endotelne stanice. Ekspresija VCAM-a i ICAM-a izravno sudjeluje u regrutaciji neutrofila. Njihova je uloga to važnija jer oni sudjeluju ne samo u lokalnom, nego i u sistemskom odgovoru na oštećenja (106-109). U bolesnika inficiranih HIV-om uočena je veća koncentracija markera endotelne disfunkcije i CRP-a prije uvođenja anti-retrovirusne terapije. Antiretrovirusna terapija značajno snižava razinu faktora endotelne disfunkcije (108). Nakon perkutane koronarne intervencije u bolesnika s nestabilnom anginom pectoris i s infarktom miokarda dolazi do povećanja koncentracije markera endotelne disfunkcije (110). U Stamovoj studiji je dokazano da su povišene vrijednosti markera endotelne disfunkcije prediktor stupnja bubrežnog oštećenja s kojim je povezana vjerojatnost kardiovaskularne smrti (105).

### 1.7.1. MEĐUSTANIČNA ADHEZIJSKA MOLEKULA-1 (ICAM-1) I VASKULARNA STANIČNA ADHEZIJSKA MOLEKULA-1 (VCAM-1)

Adhezijske molekule posreduju u interakciji stanica s ekstracelularnim matriksom, kao i s drugim stanicama. Imunoglobulinska superfamilija proteina sadrži veliku klasu adhezijskih molekula, uključujući i međustaničnu adhezijsku molekulu-1 (ICAM-1). Na mjestu upale, proupalni citokini dovode do povišenja ekspresije ICAM-1 na vaskularnom endotelu i aktivacije leukocitnih integrina, što za posljedicu ima adheziju leukocita za endotelne stanice (ES) i migraciju na mjesto upale (111-112). Do ekspresije vaskularne stanične adhezijske molekule-1 dolazi na malim krvnim žilama nakon stimulacije ES citokinima (113).

Za obje molekule je dokazano da su pokazatelji endotelne disfunkcije, te da su u korelaciji s kliničkim i laboratorijskim parametrima kroničnog bubrežnog oštećenja. Vrijednosti ICAM-1 i VCAM-1 rastu osobito u bolesnika koji se liječe hemodijalizom što sugerira da bubrezi igraju značajnu ulogu u katabolizmu ovih molekula. Ovo je posebno značajno za VCAM jer je u populacijskim istraživanjima pronađena izravna povezanost VCAM-1 i serumskog kreatinina (114,115). Do sada je u nekoliko radova dokazana uloga ICAM-1 u akutnoj infekciji hantavirusima, ali nema istraživanja o njihovoj ulozi u bolesnika s kroničnim promjenama nakon HVBS-a (116-118). Koncentracija s-ICAM i s-VCAM značajno je povišena u bolesnika s kroničnim bubrežnim bolestima i izravno govori o stupnju težine bubrežne insuficijencije. Povišene vrijednosti s-VCAM i s-ICAM su povezane sa sveukupnim mortalitetom od kardiovaskularnih bolesti. Koncentracija s-ICAM je smanjena u onih osoba koje uzimaju inhibitore angiotenzin konvertaze (ACE inhibitori) i blokatore kalcijских kanala (119).

### 1.7.2. P-SELEKTIN i E-SELEKTIN

P-selektin (CD 62P) ima važnu ulogu u migraciji limfocita u tkivo (120,121). Nađen je u konstitutivnom i u preformiranom obliku u Weibel-Palade tjelešcima u ES, te u alfa-

granulama trombocita. Važan je u aktivaciji T i B limfocita, kao i za adheziju trombocita, monocita i neutrofila, pri čemu ima središnju ulogu u nakupljanju neutrofila unutar tromba (121).

Ekspresiju E-selektina (CD62 E) nalazimo samo na ES nakon aktivacije proupalnim citokinima (IL-1, TNF- $\alpha$ ) ili endotoksinom (121-124). E-selektin, prvi je pokazao da potpomaže adheziju neutrofila na citokinima aktivirani endotel. Daljnje su studije pokazale da E-selektin ima ulogu i u prianjanju monocita, T-memorijskih limfocita, eozinofila i bazofila na endotel.

Osim udjela ovih dvaju čimbenika u aktivaciji ES pri akutnoj upali i oštećenjima endotela, postoje podaci i o njihovoj ulozi u endotelnoj disfunkciji povezanoj s kroničnim poremećajima (124-125). Endotelna disfunkcija je obligatorna, prodromalna faza u aterosklerotskom procesu. ICAM, VCAM, Von Willebrandov faktor i E-selektin trenutačno su najvažniji biomarkeri endotelne disfunkcije. Istraživanja Markotić i suradnika (neobjavljeni rezultati) ukazuju na važnu ulogu P-selektina u akutnoj infekciji PUUV-om, a još nema podataka o ulozi E-selektina u HVBS-u. Selektini su važni u mnogim bolestima, uključujući upalne bolesti. Uloga selektina i citokina je najvažnija u regrutiranju leukocita i nastanku promjena na endotelu koje omogućavaju njihovo oslobađanje i putovanje iz krvnih žila. Osim na endotelnim stanicama, E-selektin se nalazi i na mjestima s najjačom infiltracijom monocitima (126).

### 1.7.3. VASKULARNI ENDOTELNI FAKTOR RASTA (VEGF)

Vaskularni endotelni faktor rasta (engl. vascular endothelial growth factor, VEGF) je citokin koji posreduje u brojnim funkcijama ES, uključujući proliferaciju, migraciju, invaziju, preživljavanje i permeabilnost. Ekspresija VEGF-a u bubrezima je najveća u glomerularnim podocitima i tubularnim epitelijalnim stanicama, dok su receptori za VEGF najzastupljeniji u



preglomerularnim, glomerularnim i peritubularnim ES. Uloga VEGF-a u normalnoj bubrežnoj fiziologiji je većim dijelom nepoznata. Smatra se da VEGF ima značajan utjecaj u kontroli glomerularne filtracije. Lokalizacija VEGF-a blizu filtracijske barijere i njegovo poznato djelovanje na mikrovaskulaturu govori u prilog mišljenju da VEGF kontrolira glomerularnu filtraciju u normalnim bubrezima i inducira proteinuriju u patološkim uvjetima. Tubulointersticijske promjene, na modelu kao što je tubulointersticijski nefritis u miša, dižu razinu VEGF-a. U nekim slučajevima mezangiokapilarnog nefritisa (MCN) razina VEGF-a je povišena, dok u slučaju subakutnog sklerozirajućeg nefritisa (SSN) u usporedbi s kontrolnom skupinom nema razlike u razini VEGF-a. (127). U mnogim oblicima pokusnih bubrežnih bolesti razina VEGF-a je niska, a davanje VEGF-a može biti protektivno. Suprotnu ulogu VEGF ima u dijabetičara. Pretpostavlja se da endotelna disfunkcija izazvana hiperglikemijom i drugim patofiziološkim čimbenicima dijabetesa rezultira povišenjem vrijednosti VEGF-a koji sudjeluje u patofiziologiji bubrežnih oštećenja u dijabetičara (128). *In vitro* pokusi s ES pokazali su moguću ulogu VEGF-a pri infekciji s apatogenim hantavirusima (64).

#### 1.7.4. VON WILLEBRANDOV FAKTOR (vWf)

Von Willebrandov faktor (vWf) je protein koji nalazimo u plazmi, trombocitima i ES, a služi za vezivanje trombocita za oštećene krvne žile i kao nosač faktora koagulacije VIII u plazmi. Također, služi i kao jedan od pokazatelja endotelne disfunkcije te je kao takav korišten i u studijama koje su analizirale povezanost endotelne disfunkcije i kroničnih bubrežnih poremećaja (129-131). Von Willebrandov faktor je marker generalizirane endotelne disfunkcije i povezan je s povećanim rizikom za hemodijalizu. Endotelna disfunkcija pridonosi povezanosti kronične bubrežne bolesti i kardiovaskularnih bolesti (132,133).

#### 1.7.5. C- REAKTIVNI PROTEIN (CRP)

CRP je protein akutne faze upale. Jedan je od važnih upalnih markera, te povišene vrijednosti nalazimo u akutnim, ali i u nekim kroničnim stanjima. Budući da je CRP jako povezan s vaskularnim bolestima, sugerira se da ovaj protein, proizveden u jetri, nije samo marker nego može biti i medijator u vaskularnim bolestima. CRP i IL-6, IL-1 te TNF- $\alpha$  mogu biti nezavisni prediktori smrtnosti u bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću (134-136).

Stvaranje CRP-a, uz fibrinogen i serumski amiloidni faktor, potaknuto je citokinima IL-6 i TNF-om. Slijedom toga, CRP dovodi i do povišenja vrijednosti VCAM-1 i ICAM-1 (106).

## **2. HIPOTEZE**

U radu su postavljene sljedeće hipoteze:

1. U bolesnika koji su prethodno preboljeli HVBS postoje elementi disfunkcije endotelnih stanica kao rani pokazatelj budućih kroničnih bubrežnih promjena i hipertenzije.
2. Bolesnici koji su imali težu kliničku sliku u akutnoj fazi imat će izraženije kronične promjene i viši stupanj endotelne disfunkcije.
3. Moguća je povezanost tipa hantavirusa (PUUV ili DOBV) s nastankom kroničnih bubrežnih promjena, hipertenzije i endotelne disfunkcije.

## **3. CILJEVI**

1. Utvrditi postojanje endotelne disfunkcije u ispitanika s preboljelim HVBS-om pomoću mjerenja serumskih koncentracija solubilnih faktora (ICAM-1, VCAM-1, VEGF, CRP, Von Willebrandov faktor, P i E-selektin).
2. Pokazati postojanje kroničnih bubrežnih promjena i hipertenzije u ispitanika s preboljenom HVBS-om pomoću kliničkog pregleda i laboratorijskih pretraga, posebno 24-satne proteinurije i mikroalbuminurije.
3. Ispitati povezanost endotelne disfunkcije s kroničnim bubrežnim poremećajima i hipertenzijom kod ispitanika koji su prethodno preboljeli HVBS.
4. Usporediti težinu kliničke slike u akutnoj fazi sa sadašnjim stupnjem kroničnog bubrežnog oštećenja pomoću mjerenja pokazatelja endotelne disfunkcije.
5. Retrogradno odrediti serotip hantavirusa (PUUV, DOBV) i ispitati moguću povezanost serotipa hantavirusa sa stupnjem endotelne disfunkcije i kroničnih bubrežnih promjena.

## **4. ISPITANICI I METODE**

Ispitivanjem su obuhvaćene skupina vojnika koji su 1995. godine preboljeli HVBS i kontrolna skupina vojnika koja nije bolovala od HVBS-a. Ova studija uglavnom je presječna, a dio podataka obrađuje se i kao istraživanje parova.

### **4.1. BOLESNICI**

U istraživanje je pozvano 37 pripadnika profesionalnih postrojbi HV-a koji su 1995. godine zbog HVBS-a liječeni u Odjelu za zarazne bolesti KBC-a Split. Svim bolesnicima su u akutnoj fazi bolesti izravnom imunofluorescencijom dokazana specifična protutijela na hantaviruse. Svi ispitanici su muškog spola u dobi od 30 do 49 godina (tablica 2).

Kriteriji za uključivanje u istraživanje su bili:

- 1) Da je ispitanicima prije stupanja u HV učinjen sistematski pregled i da nisu prethodno bolovali od kronične bolesti, što se potvrdilo uvidom u zdravstveni karton.
- 2) Da nisu u međuvremenu oboljeli od maligne bolesti, epilepsije, dijabetesa, cerebrovaskularnog infarkta, infarkta miokarda i da nisu na stalnoj dijalizi.
- 3) Da ne uzimaju lijekove iz skupine blokatora enzima angiotenzin konvertaze, blokatore kalcijevih kanala i inhibitore receptora angiotenzina II.

Konačno je ispitivanjem obuhvaćeno 30 od 37 pozvanih bolesnika, šest bolesnika je odbilo sudjelovati, a jedan bolesnik je isključen zbog utvrđene IgA-nefropatije. Prema bodovnoj ljestvici Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, ovisno o težini kliničke slike u akutnoj fazi HVBS-a, bolesnici su razvrstani u četiri skupine: 1. lagan, 2. srednje težak, 3. težak i 4. vrlo težak tijekom bolesti (137).

U razdoblju od 1995. do 1999. godine u 23 bolesnika su praćeni hematološki i biokemijski parametri, 24-satni urin i kreatinin klirens, a u 17 bolesnika učinjena je scintigrafija bubrega.

Dio laboratorijskih nalaza i nalaz scintigrafije bubrega uspoređeni su s nalazima iz 2009. godine.

#### **4.2. KONTROLNA SKUPINA**

Kontrolna skupina obuhvaća 30 zdravih ispitanika, bivših i djelatnih pripadnika HV-a. Nepostojanje kroničnih bolesti utvrđeno je uvidom u njihovu zdravstvenu dokumentaciju i rezultate periodičnih pregleda. Po dobnoj strukturi nisu se značajno razlikovali od skupine bolesnika (tablica 2.) Određivanjem specifičnih serumskih IgG protutijela pomoću ELISA testa u svih zdravih ispitanika isključena je prethodna hantavirusna infekcija.

Tablica 2. Dobna raspodjela bolesnika i ispitanika kontrolne skupine

Dob (godine)	bolesnici	kontrole
30.-34. godine	2	6
35.-39. godine	11	12
40.-44. godine	9	6
45.-49. godine	8	6
Ukupno	30	30

### **4.3. METODE**

#### **a) Anamneza i klinički pregled**

Uzeti su anamnestički podatci o prethodnim bolovima u leđima, glavobolji, nesanicima i drugim tegobama. Izvršen je kompletni fizikalni pregled. Svakom bolesniku je učinjeno šest mjerenja krvnog tlaka, tri u sjedećem i tri u ležećem stavu s razmakom od pola sata. Izmjereni arterijski krvni tlakovi prikazani su kao sistolički, dijastolički i srednji arterijski tlak [izračunat po formuli:  $1/3 \times (\text{sistolički tlak} - \text{dijastolički tlak}) + \text{dijastolički tlak}$ ], te tlak pulsa (razlika sistoličkog i dijastoličkog krvnog tlaka).

#### **b) Hematološke pretrage**

Određena je brzina sedimentacije eritrocita (SE) (mm/1.sat), te broj eritrocita ( $10^{12}/L$ ), hematokrit (L/L), hemoglobin (g/L), leukociti ( $10^9/L$ ), trombociti ( $10^9/L$ ) na hematološkom analizatoru (Advia 120 Hematology System Bayer Corporation, Tarrytown, New York, SAD). Von Willebrandov faktor i d-dimeri analizirani su na odgovarajućem analizatoru (Behring Coagulation Timer, Version 1,7; Dade Behring GmbH, Marburg, Njemačka). Kod Von Willebrandova faktora promatrana je ristocetinska aktivnost koja se odnosi na aktivnost i ulogu vonWillebrandova faktora pri adheziji trombocita.

#### **c) Biokemijske pretrage**

U krvi su određeni C-reaktivni protein (CRP) (mg/L), aspartat aminotransferaza (AST) (IJ/L), alaninaminotransferaza (ALT) (IJ/L), gamaglutamil transferaza (GGT) (IJ/L), alkalna fosfata (AF) (IJ/L), kreatinin fosfokinaza (CPK) (IJ/L), laktat dehidrogena (LDH) (IJ/L), bilirubin ( $\mu\text{mol}/L$ ), kreatinin ( $\mu\text{mol}/L$ ), Na (mmol/L), K (mmol/L), Cl (mmol/L), ureja (mmol/L), acidum uricum (mmol/L), kolesterol (mmol/L) i trigliceridi (mmol/L), te hormoni štitnjače  $T_3$  (nmol/L),  $T_4$  (nmol/L), TSH (mIJ/L) .

Prvi jutarnji urin pregledan je na prisutnost hemoglobina, glukoze, nitrita i cilindara, izmjerena mu je osmolalnost i pregledan je sediment. U jednog bolesnika s eritrociturijom učinjen je i pregled urina na dizmorfiju eritrocita.

Nakon trodnevne dijeta s ograničenim unosom soli (do 6 grama dnevno), svim ispitanicima je u tri navrata pregledan 24-satni urin. Urin je prikupljan od sedam sati prije podne prethodnog dana do sedam sati prije podne na dan analize. Određena je specifična težina, elektroliti (Na, K, Cl), kreatinin, ureja, proteini i albumini. Navedene pretrage učinjene su na Olympusovu analizatoru (Olympus AU 2700, Olympus Mishima CO., Ltd., Shizuoka, Japan). Iz dobivenih podataka izračunat je klirens kreatinina.

Svim ispitanicima određene su koncentracije  $\beta 2$  mikroglobulina u serumu i u urinu na analizatoru BN Pro Spec (Dade Behring GmbH, Marburg, Njemačka).

Svim ispitanicima procijenjena je stopa glomerularne filtracije (engl. estimated glomerular filtration rate, eGFR) po formuli od Levij-a i suradnika (MDRD) koja se najviše primjenjuje u praksi  $[170 \times (\text{kreatinin})^{-0.999} \times (\text{dob})^{-0.176} \times (\text{urea})^{-0.170} \times (\text{albumin})^{-0.318}] (138)$ .

#### **d) Mikrobiološke pretrage**

Serotipovi uzročnika HVBS-a utvrđeni su retrogradno testiranjem seruma bolesnika pomoću ELISA testa na prisutnost specifičnih IgG antitijela za viruse Puumala i Dobrava. Eventualno inaparentno preboljenje HVBS-a u kontrolnoj skupini isključeno je određivanjem serumskih IgG protutijela na iste hantanviruse. Svim ispitanicima učinjene su po tri urinokulture u Odjelu za kliničku mikrobiologiju KBC-a Split.

#### **e) Aparaturne pretrage**

U 20 bolesnika učinjena je scintigrafija bubrega tijekom studije (14 godina nakon preboljelog HVBS-a). U 17 bolesnika iz ove skupine scintigrafija je prvi put učinjena u razdoblju od 6

mjeseci do četiri godine nakon preboljenja HVBS-a. Nijednom ispitaniku iz kontrolne skupine nije učinjena scintigrafija bubrega.

Svim ispitanicima izvršen je pregled očne pozadine i učinjen je elektrokardiogram.

Svim ispitanicima učinjen je i ultrazvučni pregled trbuha s posebnim osvrtom na prikaz bubrega i jasnoću kortikomedularne granice, te ultrazvučni prikaz jetre. Korišten je ultrazvučni aparat Toshiba "Nemio" SSA-550 A, Tokio (Japan).

#### **f) Analiza imunoloških parametara**

Svim ispitanicima određene su u serumima i urinu solubilne adhezijske molekule (sICAM-1, sVCAM-1), selektini (sP-selektin, sE-selektin) i faktor rasta (VEGF) pomoću imunoenzimskog (ELISA) testa (Quantikine <sup>TM</sup>, R&D System, Oxon, Velika Britanija) prema uputama proizvođača.

#### **g) Statistička obrada**

Obrada podataka napravljena je na statističkom računalnom paketu SPSS-17. Od statističkih metoda korištena je deskriptivna statistika: raspored frekvencija, medijan, mjere disperzije, minimalne i maksimalne vrijednosti, grafičko prikazivanje pomoću Box-Whisker grafikona.

Za testiranje razlika između dvaju nezavisnih uzoraka (bolesnici-kontrolna skupina) primijenjen je neparametrijski Mann-Whitneyev test. Statistički značajna razlika smatrana je razina 5% signifikantnosti testa.

Za testiranje povezanosti nominalnih varijabli korišten je  $\chi$ -kvadrat test.

Nadalje, primijenjena je logistička regresija kao multivarijacijska analiza. Logističkom regresijom ispitanici su razvrstani u dvije skupine temeljem više nezavisnih prediktorskih varijabli ( SE, urati u krvi, T3, Von Willebrand, CRP, ureja u krvi, kreatinin u krvi, proteini 1. mjerenje u 24 satnom urinu, proteini 3. mjerenje u 24 satnom urinu, mikroalbumini 2. mjerenje



u 24-satnom urinu i mikroalbumini 3. mjerenje u 24-satnom urinu, osmolalnost, P-selektin, E-selektin, sICAM, sVCAM, VEGF, P i E selektin u serumu i urinu). Kod klasifikacije su postignuti dobri rezultati pomoću sljedećih varijabli koje su logističkom regresijom ("stepwise, backward") zadržane u modelu: CRP, mikroalbumin 2. mjerenje i 3. mjerenje, sVCAM u serumu, VEGF urin, te P-selektin u urinu i Von Willebrandov faktor u serumu. Tu je kao kriterij izbacivanja iz modela zbog opreza uzeta signifikantnost od 10%, kako neka značajna varijabla ne bi bila izbačena iz modela. Specifičnost modela iznosila je 93,1%.

#### **h) Etički standardi**

Poštovane su etičke norme i hrvatski zakoni, kao i međunarodne konvencije. Suglasnost za istraživanje dobivena je od Etičkog povjerenstva KBC-a Split, te od etičkog odbora Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Bolesnici su uključeni u istraživanje nakon što su potpisali informirani pristanak.

## **5. REZULTATI**

### **a) *Analiza anamnestičkih i kliničkih podataka***

Prosječna životna dob oboljelih (aritmetička sredina) bila je 41 (31-49) godinu, a ispitanika iz kontrolne skupine 39 (31-49) godina. Prosječna tjelesna težina ispitanika koji su preboljeli HVBS bila je 89 (64-111) kg, a ispitanika iz kontrolne skupine 92 (73-110) kg. Prosječna tjelesna visina bolesnika bila je 183 (171-200) cm, a ispitanika iz kontrolne skupine 184 (176-195) cm.

Bolesnici su od subjektivnih kroničnih tegoba navodili glavobolju u gotovo 50% slučajeva, a 36,6% bolesnika navodilo je bolove u leđima. Psihičke smetnje različitog intenziteta navodilo je oko 15% bolesnika, uz malaksalost i nesanicu, a učestalije mokrenje i povremeni konjunktivitis zabilježeni su kod dva bolesnika. U kliničkom statusu u 36,6% bolesnika nađena je osjetljiva lumbalna sukusija, hepatomegalija u tri bolesnika i povećana slezena u jednog bolesnika.

### **a<sub>1</sub>) *Rezultati seroloških pretraga i stupnjevanje težine HVBS-a tijekom akutne faze***

U tablici 3 prikazani su rezultati serološke obrade na viruse uzročnike HVBS-a, te prema težini kliničke slike HVBS-a u akutnoj fazi bolesti. Ni jedan ispitanik iz kontrolne skupine nije bio seropozitivan na hantaviruse. Od ukupno 30 bolesnika 27 (90%) ih je imalo infekciju PUUV-om, za jednog bolesnika se nije moglo utvrditi kojim je virusom bio inficiran, a dva bolesnika imala su infekciju DOBV-om. Zbog toga su u nastavku analizirani zajedno klinički i laboratorijski nalazi kod svih bolesnika u usporedbi s kontrolom. Dodatno su izdvojeno prikazani nalazi dvojice bolesnika inficiranih DOBV-om.

Srednje težak tijek bolesti imalo je 60% bolesnika, a 40% njih imalo je laki oblik bolesti.

Tablica 3. Raspodjela bolesnika prema serotipu virusa i težini kliničke slike HVBS-a 1995. godine

Specifična IgG protutijela	Težina kliničke slike				Ukupno
	laka	srednje teška	teška	vrlo teška	
Puumala	11	15	1	0	27
Dobrava	0	1	1	0	2
Netipizirani	0	1	0	0	1
<b>Ukupno</b>	<b>11</b>	<b>17</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>30</b>

#### ***a2) Rezultati mjerenja krvnog tlaka***

U tablici 4 prikazani su rezultati mjerenja arterijskog tlaka. Uočljive su značajno veće vrijednosti krvnog tlaka u osoba koje su preboljele HVBS u odnosu na ispitanike iz kontrolne skupine. Razlike su statistički značajne u sistoličkom, dijastoličkom i srednjem arterijskom tlaku u sva tri mjerenja, dok u vrijednostima tlaka pulsa nema razlike.

#### ***b) Hematološki nalazi***

U tablici 5 prikazani su rezultati hematoloških pretraga. Vrijednosti sedimentacije eritrocita značajno su više u skupini bolesnika negoli u kontrolnoj skupini (medijan 6/4 mm/h,  $p=0,025$ ), iako su medijani u okviru normalnih vrijednosti. Vrijednosti Von Willebrandova faktora značajno su više u skupini bolesnika u odnosu na kontrole ( $p=0,008$ ), a i ovdje su vrijednosti medijana unutar referentnih vrijednosti. Vrijednosti leukocita, eritrocita, hemoglobina i trombocita u okviru su referentnih vrijednosti i u bolesnika i kontrola.

Tablica 4. Prikaz vrijednosti krvnog tlaka u sjedećem i ležećem položaju u bolesnika (N=30) i ispitanika (N=30) iz kontrolne skupine

Nalaz krvnog tlaka		MEDIJAN	MIN.	MAKS.	25%	75%	P
		Bolesnici/ Kontrola	Bolesnici/ Kontrola	Bolesnici/ Kontrola	Bolesnici/ Kontrola	Bolesnici/ Kontrola	Mann-Whitney test
RR sjedeći sistolički.	I. mjerenje	130,0/125,0	110,0/110,0	150,0/150,0	120,0/115,0	137,0/130,0	<b>0,028</b>
	II. mjerenje	130,0/125,0	110,0/100,0	160,0/140,0	120,0/120,0	140,0/130,0	<b>0,040</b>
	III. mjerenje	130,0/120,0	110,0/110,0	155,0/145,0	120,0/115,0	140,0/130,0	<b>0,012</b>
RR sjedeći dijastolički	I. mjerenje	80/70	70/60	120/100	75/70	90/90	<b>0,014</b>
	II. mjerenje	90,0/80,0	60,0/60,0	100,0/90,0	80,0/65,0	93,7/85,0	<b>0,001</b>
	III. mjerenje	90,0/80,0	75,0/65,0	100,0/90,0	85,0/65,0	95,0/85,0	<b>0,000</b>
SAT sjedeći	I. mjerenje	96,6/86,6	86,6/76,6	126,6/116,5	90,8/84,9	108,3/101,6	<b>0,009</b>
	II. mjerenje	103,3/94,9	78,2/74,9	119,9/106,6	94,1/84,9	106,5/99,9	<b>0,001</b>
	III. mjerenje	103,3/93,3	88,3/81,6	118,3/106,6	97,0/86,6	107,9/99,9	<b>0,000</b>
Tlak pulsa sjedeći	I. mjerenje	45,0/50,0	20,0/35,0	60,0/65,0	40,0/45,0	53,750,0	0,640
	II. mjerenje	45,0/45,0	25,0/30,0	60,0/60,0	40,0/40,0	50,0/55,0	0,418
	III. mjerenje	42,5/45,0	25,0/30,0	60,0/70,0	36,2/40,0	45,0/50,0	0,09
RR ležeći sistolički	I. mjerenje	130,0/120,0	105,0/100,0	160,0/150,0	120,0/115,0	140,0/130,0	<b>0,007</b>
	II. mjerenje	132,5/125,0	100,0/105,0	160,0/140,0	121,2/115,0	143,7/130,0	<b>0,003</b>
	III. mjerenje	132,5/120,0	110,0/110,0	150,0/130,0	120,0/115,0	140,0/130,0	<b>0,000</b>
RR ležeći dijastolički	I. mjerenje	87,5/80,0	60,0/60,0	100,0/95,0	80,0/65,0	93,0/85,0	<b>0,011</b>
	II. mjerenje	85,0/80,0	65,0/55,0	100,0/90,0	76,2/70,0	90,0/80,0	<b>0,002</b>
	III. mjerenje	90,0/75,0	65,0/60,0	105,0/90,0	80,0/70,0	90,0/80,0	<b>0,000</b>
SAT ležeći	I. mjerenje	101,6/93,3	79,9/74,9	116,6/109,6	93,3/81,6	107,9/99,9	<b>0,005</b>
	II. mjerenje	99,9/93,3	76,6/74,9	114,9/103,3	94,1/84,9	107,8/96,6	<b>0,000</b>
	III. mjerenje	103,3/91,6	79,9/50,3	118,3/103,3	97,0/86,6	106,6/94,9	<b>0,000</b>
Tlak pulsa ležeći	I. mjerenje	42,5/45,0	30,0/30,0	65,0/70,0	36,2/35,0	53,7/55,0	0,601
	II. mjerenje	45,0/50,0	23,0/35,0	90,0/60,0	40,0/40,0	55,0/50,0	0,958
	III. mjerenje	45,0/45,0	25,0/29,0	70,0/60,0	40,0/40,0	50,0/50,0	0,548

RR =Riva Rocci za mjerenje krvnog tlaka, SAT= srednji arterijski tlak

Tablica 5. Deskriptivna statistika hematoloških nalaza u bolesnika (N=30) i ispitanika iz kontrolne skupine (N=30)

Nalazi	Referentne vrijednosti	MEDIJAN	MIN.	MAKS.	25%	75%	P
		Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	
Sedimentacija	4-24 mm/h	6/4	1/1	31/12	4/3	10/6	<b>0,025</b>
Leukociti	3,4 -9,7 10 <sup>9</sup> /L	6,8/6,7	3,9/4,1	12,2/9,1	5,3/5,6	9,0/7,7	0,871
Eritrociti	4,34-5,72 10 <sup>12</sup> /L	4,85/5,10	4,20/4,00	6,00/5,74	4,60/4,90	5,63/5,40	0,340
Hemoglobin	138-175 g/L	149/153	130/118	178/171	139/144	153/158	0,599
Trombociti	158-424 10 <sup>9</sup> /L	231/227	149/160	492/344	200/196	258/258	0,773
Von Willebrandov faktor	0,50-1,50	1,24/1,04	0,64/0,47	1,80/1,63	1,01/0,74	1,52/1,23	<b>0,008</b>
D-dimeri	<0,5mg/L	0,2/0,2	0,1/0,1	0,7/0,7	0,2/0,2	0,3/0,4	0,917

### ***c) Biokemijski nalazi***

U biokemijskim nalazima (tablica 6) vrijednosti glukoze u krvi više su u bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu (medijan 5,0/5,4 mmol/L) i nalaze se na gornjoj granici referentnih vrijednosti, ali razlika nije statistički značajna. Medijan vrijednosti bilirubina, aspartat aminotransferaze, alanin aminotransferaze i laktat dehidrogenaze neznatno je viši u ispitanika iz kontrolne skupine nego u skupini bolesnika. Vrijednosti urata u krvi statistički su značajno više u skupini bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 330/282  $\mu$ mol/L,  $p=0,025$ ). Nema razlike u vrijednosti trijodtironina između ispitivanih skupina, dok su vrijednosti tiroksina značajno niže u bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 87,3/104,0,  $p=0,005$ ).

Iako su vrijednosti C-reaktivnog proteina u obje skupine u referentnim granicama, njegova vrijednost je dvaput viša u skupini bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 2,5/1,2 mg/L,  $p=0,005$ ).

Vrijednost imunoglobulina A značajno je viša u skupini bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 2,31/1,77g/L,  $p=0,014$ ), dok su vrijednosti imunoglobulina G i M bez značajne razlike. Vrijednosti ureje i kreatinina bez značajne su razlike između bolesnika i kontrolne skupine.

### ***c1) Biokemijske vrijednosti u 24-satnom urinu***

U tablici 7 i tablici 7a prikazane su vrijednosti biokemijskih parametara u 24 satnom urinu u po tri mjerenja za svaki pojedini parametar. Tako su vrijednosti ureje u 24 satnom urinu više u sva tri mjerenja u ispitanika kontrolne skupine ( $p<0,001$ ,  $p=0,003$ ,  $p=0,004$ ). Vrijednosti kreatinina i kreatinin klirensa nisu se značajno razlikovale između bolesnika i kontrolne skupine, iako se uočava da su vrijednosti kreatinin klirensa u skupini bolesnika u dva mjerenja znatno niže od normale (medijan 0,30 i 0,50 ml/s).

Vrijednosti natrija (koji većim dijelom pokazuju ingestiju soli) u jednome mjerenju značajno su više u kontrolnoj skupini (medijan 157,0/230,0 mmol/dan,  $p=0,037$ ).

U jednome mjerenju i vrijednost kalija bila je značajno viša u kontrolnoj skupini nego u bolesnika (medijan 62,6/65,9 mmol/dan,  $p=0,014$ ), a također i vrijednost klora, koja je bila znatno viša u kontrola nego li u bolesnika (medijan 185,0/222,9 mmol/dan,  $p=0,065$ ).

U tablici 7a prikazana su ostala mjerenja. U skupini bolesnika u dva od tri uzorka 24-satnog urina bile su značajno veće koncentracije proteina (medijan 142/91 mg/dan i 133/90 mg/dan,  $p<0,001$  i  $p=0,002$ ), kao i koncentracije mikroalbumina (medijan 15,6/6,1 mg/dan i 6,9/5,3 mg/dan,  $p<0,001$  i  $p=0,001$ ) nego u kontrolnoj skupini. Također, u sva tri mjerenja nađena je statistički značajno veća koncentracija  $\beta_2$  mikroglobulina u skupni bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 0,20/0,18 mg/L, 0,20/0,17 mg/L i 0,17/0,15 mg/L,  $p=0,003$ ,  $p=0,027$  i  $p=0,028$ ). Osmolalnost prvog jutarnjeg urina bila je značajno manja u skupni bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 830/880 mOsm/kgH<sub>2</sub>O,  $p=0,01$ ).

U tablici 8 prikazni su rezultati pregleda prvoga jutarnjeg urina. U analizi prvoga jutarnjeg urina bilježi se značajno izraženija eritrociturija u osoba koje su preboljele HVBS ( $p=0,048$ ). Proteinurija i leukociturija također su viših vrijednosti u bolesnika, ali razlika nije bila statistički značajna ( $p=0,11$  i  $p=0,187$ ).

#### ***d) Mikrobiološke pretrage***

Analiza urinokultura iz prvoga jutarnjeg urina pokazala je da su četiri ispitanika iz skupine bolesnika imala pozitivnu urinokulturu, dok nijedan ispitanik iz kontrolne skupine nije imao pozitivnu urinokulturu. Sva četiri bolesnika koja su imala pozitivnu urinokulturu imala su proteinuriju preko 150mg/dan.

Tablica 6. Deskriptivna statistika biokemijskih nalaza u bolesnika (N=30) i ispitanika iz kontrolne skupine (N=30)

Nalazi	Referentne vrijednosti	MEDIJAN	MIN.	MAKS.	25%	75%	P
		Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	
Guk	4,4-6,4 mmol/L	5,0/5,4	4,2/4,3	7,5/6,0	4,7/4,8	6,3/5,7	0,690
Bilirubin	5,1-22,2 $\mu$ mol/L	12,1/13,6	6,6/7,1	25,1/40,2	9,3/11,6	15,0/20,6	0,198
AST	1-37 J/L	24/25	14/15	59/45	19/20	31/31	0,445
ALT	1-39 J/L	29/32	14/15	98/93	21/27	41/59	0,264
LDH	110-241 J/L	163/170	115/67	262/226	140/159	181/186	0,211
Urat u krvi	142-416 $\mu$ mol/L	319/297	157/213	556/387,0	267/260	360/340	<b>0,025</b>
T3	1,26-2,75 nmol/L	1,80/1,73	1,18/0,95	2,27/2,66	1,68/1,10	1,96/2,07	0,283
T4	58,00-161,00 nmol/L	87,30/104,00	75,00/67,59	139,00/130,00	80,14/93,00	105,50/111,00	<b>0,005</b>
CRP	0,0-5,0 mg/L	2,5/1,2	0,5/0,50	22,0/7,7	1,5/0,9	12,2/2,1	<b>0,005</b>
IgA	0,70-4,00 g/L	2,31/1,77	0,94/0,88	6,44/3,65	1,77/1,35	3,18/2,34	<b>0,014</b>
IgM	0,40-2,30 g/L	0,73/0,93	0,11/0,45	1,71/1,55	0,60/0,67	1,13/1,07	0,271
IgG	7,00-16,00 g/L	10,40/9,84	2,70/7,00	20,60/14,20	8,92/8,30	12,09/11,83	0,894
Urea u krvi	3,6-7,2 mmol/L	5,8/6,1	2,4/4,1	7,3/8,4	4,5/5,0	6,5/6,7	0,105
Kreatinin u krvi	44-106 $\mu$ mol/L	89/90	63/59	321/117	80/78	96/97	0,941

GuK= glukoza u krvi AST= aspartataminotransferaza, ALT= alanin aminotransferaza, LDH= laktatdehidrogenaza T3=trijodtironin, T4=tirosin, CRP= C-reaktivni protein, IgA= imunoglobulin A, IgM= imunoglobulin M, IgG =imunoglobulin G



Tablica 7. Deskriptivna statistika biokemijskih vrijednosti u 24-satnom urinu u bolesnika (N=30) i ispitanika kontrolne skupine (N=30)

Nalazi u 24-satnom urinu		Referentne vrijednosti	MEDIJAN	MIN.	MAKS.	25%	75%	P
			Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	
Urea	I. mjerenje	250-570 mmol/d	342/439	181/316	665/742	293/377	388/530	<b>0,000</b>
	II. mjerenje		346/445	180/309	640/776	297/350	392/489	<b>0,003</b>
	III. mjerenje		306/400	214/220	640/669	260/342	418/477	<b>0,004</b>
Kreatinin	I. mjerenje	7,00-25,00mmol/d	19,45/18,0	9,30/12,60	90,00/30,60	15,64/15,20	27,97/20,64	0,344
	II. mjerenje		18,70/20,00	9,33/10,43	30,20/26,00	15,62/16,60	22,78/22,50	0,579
	III. mjerenje		18,55/18,90	10,50/10,20	89,00/27,90	15,92/14,00	22,80/21,50	0,455
Kreat.klirens	I. mjerenje	1,20-2,40 ml/s	2,17/2,10	<b>0,30</b> /1,31	3,60/3,40	1,87/1,65	2,45/2,40	0,329
	II. mjerenje		2,15/2,14	<b>0,50</b> /1,43	3,10/2,81	1,80/1,94	2,51/2,40	0,885
	III. mjerenje		2,14/2,20	0,91/1,10	3,10/2,62	1,86/1,65	2,50/2,43	0,336
Natrij	I. mjerenje	120,0-250,0 mmol/d	182,0/176,3	97,0/48,0	465,0/334,0	125,0/147,0	228,0/223,0	0,679
	II. mjerenje		157,5/230,0	20,3/106,9	503,0/362,0	115,9/171,4	221,0/261,0	<b>0,037</b>
	III. mjerenje		204,7/205,7	115,0/136,3	340,0/382,0	151,0/171,0	262,5/275,0	0,375
Kalij	I. mjerenje	50,0-100,0 mmol/d	65,0/66,9	27,0/36,8	130,0/115,0	43,0/54,1	83,4/85,8	0,935
	II. mjerenje		53,9/74,0	10,5/44,3	128,0/101,6	44,2/61,0	66,0/79,0	0,935
	III. mjerenje		62,6/65,9	33,8/27,9	128,8/94,0	46,7/50,2	73,3/76,2	<b>0,014</b>
Klor	I. mjerenje	128,0-257,0 mmol/d	173,9/183,0	45,2/59,0	497,0/289,0	129,7/149,0	237,7/210,0	0,888
	II. mjerenje		185,0/222,9	31,6/119,0	459,0/407,0	106,2/175,2	238,2/250,8	<b>0,065</b>
	III. mjerenje		200,4/209,8	102,0/150,7	386,0/362,5	166,2/180,0	260,6/249,0	0,304

Tablica 7a. Deskriptivna statistika biokemijskih vrijednosti u 24-satnom urinu u bolesnika (N=30) i ispitanika iz kontrolne skupine (N=30)

Nalazi u 24 satnom urinu		Referentne vrijednosti	MEDIJAN	MIN.	MAKS.	25%	75%	P
			Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	Bolesnici / Kontrola	
Fosfor	I. mjerenje	12,80 -64,50 mmol/d	28,60/33,99	17,60/22,67	83,00/55,70	23,55/27,00	46,71/42,40	0,429
	II. mjerenje		30,00/32,11	14,00/21,00	55,70/54,50	27,00/27,30	35,50/41,00	0,487
	III. mjerenje		26,60/31,10	18,80/16,35	142,00/146,01	23,12/23,83	35,67/40,60	0,511
Magnezij	I. mjerenje	3,00-5,00 mmol/d	4,10/4,32	1,70/3,00	11,10/9,10	3,22//3,40	5,82/5,20	0,420
	II. mjerenje		4,53/4,60	2,29/3,20	32,20/8,67	1,96/3,40	6,16/6,40	0,464
	III. mjerenje		3,95/4,60	1,61/2,90	7,40/6,80	2,86/3,47	5,51/6,01	<b>0,037</b>
Kalcij	I. mjerenje	2,50-7,50 mmol/d	4,35/5,00	0,70/1,38	10,40/10,40	3,10/3,60	6,75/6,80	0,315
	II. mjerenje		6,15/5,90	2,09/1,38	9,13/12,8	3,77/4,20	8,10/8,69	0,848
	III. mjerenje		4,45/5,59	1,90/3,33	9,18/12,70	2,83/4,39	8,05/8,17	<b>0,032</b>
Proteini	I. mjerenje	25-150 mg/d	142/91	48/38	<u>695</u> /204	98/78	196/127	<b>0,000</b>
	II. mjerenje		127/114	43/66	347/214	75/90	195/130	0,348
	III. mjerenje		133/90	51/13	262/157	107/76	175/123	<b>0,002</b>
Mikroalbumini	I. mjerenje	1,0-30,0 mg/d	7,6/6,0	0,2/0,1	383,0/44,0	4,9/3,9	24,4/12,2	0,074
	II. mjerenje		15,6/6,1	0,0/1,4	83,8/25,5	7,8/4,2	21,7/7,2	<b>0,000</b>
	III. mjerenje		6,9/5,3	2,7/0,7	131,0/8,2	4,1/2,9	16,7/6,5	<b>0,001</b>
B2 mikroglobulin	I. mjerenje	0-0,20 mg/L	0,20/0,18	0,13/0,11	0,71/0,25	0,18/0,16	0,20/0,20	<b>0,003</b>
	II. mjerenje		0,20/0,17	0,08/0,13	0,33/0,23	0,15/0,15	0,23/0,19	<b>0,027</b>
	III. mjerenje		0,17/0,15	0,05/0,13	0,66/0,26	0,15/0,15	0,19/0,16	<b>0,028</b>
Osmolalnost		300-900 mOsm/kgH <sub>2</sub> O	830/880	574/667	996/1.074	708/833	887/960	<b>0,010</b>
Specif. težina		1.002-1.030 kg/m <sup>3</sup>	1.020/1.020	1.005/1.005	1.030/1.031	1.015/1.015	1.025/1.025	0,862

Tablica 8. Analiza prvoga jutarnjeg urina u skupini bolesnika (N=30) i kontrola (N=30)

Nalazi u urinu	Bolesnici	Kontrola	$\chi^2$ Fisher exact test
Pozitivni nitriti u urinu (normala 0 $\mu\text{mol/L}$ )	1	0	p=0,5
Pozitivni proteini (normala < 0,2 gr/L)	7	2	p=0,11
Eritrociti patološki nalaz >2E u svakom vidnom polju	11	3	<b>p=0,048</b>
Leukociti patološki nalaz >2L u svakom vidnom polju	17	10	p=0,187

Tablica 9. Prikaz nalaza koji su bili dostupni za dva bolesnika inficirana Dobrava virusom u akutnoj fazi 1995. i u rekonvalescenciji 2009. godine

Vrijednosti	Referentne vrijednosti	1995. godina			2009. godina		
		Bolesnik 1	Bolesnik 2	Srednja vrijednost	Bolesnik 1	Bolesnik 2	Srednja vrijednosti
Sedimentacija	/4-24 mm/h/	2	4		11	6	7
Leukociti	3,4 -9,7 10 <sup>9</sup> /L	10,8	5,7	8,1	6,6	5,4	7,2
Trombociti	158-424 10 <sup>9</sup> /L	<b>13</b>	<b>112</b>	145	245	225	240
Urea u krvi	3,6-7,2 mmol/L	<b>29,1</b>	<b>14,4</b>	16,6	7,6	6,7	5,66
Kreatinin u krvi	44-106 µmol/L	<b>848</b>	<b>514</b>	447	137	80	89,9
AST	1-37 J/L	33	18	38	27	14	26
ALT	1-39 J/L	19	19	46	40	26	34
GGT		24	31	48	16	18	42
LDH	110-241 J/L	610	252		160	163	165
Leukociti u urinu	>2 L na svp	3				1	
Eritrociti u urinu	>2 E na svp	7				3	
Beta2 mikroglobulin	0-0,20 mg/L				0,30	0,29	
Proteini u 24satnom urinu	25-150 mg/d	<b>420</b>	<b>757</b>		<b>173</b>	<b>213</b>	<b>154</b>
Natrij u 24satnom urinu	120,0-250,0 mmol/d19				106		
Duljina liječenja 1995.godina	dani	21	18	13			

AST= aspartataminotransferaza, ALT= alaninaminotransferaza, GGT=gamaglutamiltransferaza, LDH=laktatdehidrogenaza

Tablica 10. Usporedba nalaza u bolesnika 1998. godine (I.) i 2009. godine (II.) N = 17

Bolesnik	sedimentacija (4-24mm/h)		leukociti (3,4-9,7 10 <sup>9</sup> /L)		eritrociti (4,3-5,7 10 <sup>12</sup> /L)		trombociti (158-424 10 <sup>9</sup> /L)		glukoza (4,4-6,4mmol/L)		urea (3,6-7,2mmol/L)		kreatinin (44-106μmol/l)		urati (142-416μmol/L)		AST (1-37j/L)	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1	6	6	4,07	6,49	5,02	5,00	245	238	5,1	5,50	8,7	8,10	112	102	281	343	17	23
2	5	8	5,83	5,72	4,5	4,60	195	227	4,1	4,7	4,8	4,25	70	83	168	265	12	59
3	2	4	4,78	4,26	5,11	5,00	194	206	5,5	4,2	5,3	5,20	93	84	189	250	14	22
4	3	5	5,3	4,10	4,90	4,80	182	230	3,9	5,00	5,3	6,30	96	87	221	263	16	36
5	3	5	4,3	5,11	5,00	4,50	180	239	5,0	4,50	5,2	5,25	90	94	189	380	16	19
6	4	11	6,5	6,28	4,90	4,92	223	233	4,8	6,40	7,8	5,95	94	84	190	275.6	18	33
7	6	6	10,5	11,40	5,10	4,90	195	199	4,9	4,80	5,4	5,65	87	77	195	262	13	16
8	5	11	7,06	6,60	4,73	4,60	261	245	5,0	4,80	7,6	7,75	94	94	244	380	13	27
9	7	8	6,14	6,53	5,12	4,80	234	203	5,0	6,10	6,2	5,50	89	80	236	280	18	26
10	6	4	6,0	6,30	5,10	6,00	199	267	6,1	4,50	4,4	5,20	90	83	290	295	18	26
11	30	31	9,5	9,70	5,20	4,20	644	492	5,3	4,50	4,9	5,25	89	74	260	289	19	29
12	10	2	8,0	4,50	5,10	5,7	240	195	6,0	5,90	4,6	6,25	85	96	240	303	16	24
13	4	11	5,8	7,91	4,97	4,6	337	384	5,2	5,50	5,0	5,80	96	88	235	306	19	20
14	14	27	5,14	6,30	5,46	4,7	206	164	4,7	7,20	6,0	5,35	91	85	429	303	24	45
15	4	3	6,44	5,10	5,16	4,9	220	240	4,6	5,00	6,4	5,15	102	103	413	333	14	28
16	12	4	4,62	5,32	5,08	4,7	325	249	6,4	7,50	6,2	5,30	96	95,6	251	344	17	42
17	7	6	11,11	8,49	5,84	4,7	221	230	5,8	5,40	7,5	5,95	94	85,3	229	298	26	14
<b>Sr. Vrij</b>	<b>7,53</b>	<b>8,94</b>	<b>6,53</b>	<b>6,48</b>	<b>5,08</b>	<b>4,86</b>	<b>253</b>	<b>249</b>	<b>5,80</b>	<b>5,38</b>	<b>5,96</b>	<b>5,78</b>	<b>92,2</b>	<b>87,94</b>	<b>250</b>	<b>305</b>	<b>17</b>	<b>28</b>

AST =aspartat aminottransferaza, Sr.Vrij =srednja vrijednost, ref. vrij.= referentne vrijednosti

Tablica 10a. Nastavak usporedbe nalaza 1998. i 2009. godine u 17 bolesnika

bolesnik	ALT (ref. vrij.) (1-39/J/L)		GGT (1-55 J/L)		LDH (110-241J/L)		β2mikrogl. (0,8-2,4 mg/L)		imunoglobulin A (0,70-4,00 g/L)		imunoglobulin G (7,00-16,00g/L)		imunoglobulin M (0,40-2,30g/L)		kreatinin u 24 satnom/urinu (7,00-25,00 mmol/d)		kreatinin klirens (1,2-2,40ml/s)	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1	22	26	27	25	214	175	1,6	1,59	1,72	1,45	13,30	10,15	0,68	0,44	22,1	21,1	0,50	2,30
2	18	98	10	95	153	143	1,9	2,05	3,12	3,29	14,79	13,82	1,44	1,26	8,60	15,60	2,06	1,90
3	9	21	8	8	147	130	1,28	1,38	1,56	1,45	16,90	11,36	1,47	1,24	16,4	17,20	1,54	2,03
4	18	75	20	78	150	180	1,3	1,19	1,49	4,14	15,95	11,29	1,38	1,17	2,57	19,83	0,68	2,37
5	14	31	21	45	154	160	1,2	2,00	1,36	3,05	16,01	11,82	1,29	1,40	6,40	18,7	1,18	1,81
6	19	44	22	39	153	164	1,2	1,66	1,54	3,97	15,90	10,80	1,39	1,04	13,4	16,03	1,22	1,81
7	16	14	18	22	225	115	1,3	0,99	1,49	2,03	14,20	11,05	1,33	0,96	14,4	17,63	1,57	2,53
8	13	40	10	16	216	160	1,42	1,76	2,39	1,17	9,10	9,07	1,28	1,10	15,0	16,30	2,0	2,05
9	21	39	12	33	195	175	1,78	1,65	2,78	2,83	14,40	13,45	0,34	0,41	10,5	15,73	1,9	2,06
10	29	49	55	45	177	182	1,1	2,15	2,11	1,92	12,50	10,52	1,64	0,70	17,1	19,34	1,66	2,44
11	24	15	50	72	180	133	1,2	1,99	2,01	3,62	11,90	10,70	1,39	1,18	16,9	16,70	0,72	1,87
12	19	26	39	12	205	144	1,17	1,80	4,12	1,82	13,60	12,70	1,92	0,63	12,1	18,01	1,8	1,89
13	18	21	50	35	210	195	1,3	1,49	2,16	2,29	12,80	10,46	1,80	0,87	19,2	17,13	2,79	1,66
14	39	47	39	96	225	153	2,58	1,99	7,69	4,20	13,79	10,21	1,55	0,91	14,6	23,99	2,8	2,56
15	13	42	30	27	216	187	2,2	2,07	1,41	1,70	7,91	8,55	1,04	0,62	11,8	28,36	1,98	2,14
16	25	36	11	21	201	194	2,1	1,98	1,96	2,20	18,00	10,42	0,53	1,15	11,2	37,36	2,5	2,33
17	28	14	39	20	193	124	2,83	1,76	3,72	3,10	12,20	9,10	0,83	1,36	16,5	14,73	2,6	1,68
<b>Sr vrijed</b>	<b>20,29</b>	<b>37,53</b>	<b>27,12</b>	<b>40,53</b>	189	159	1,62	1,74	2,51	2,60	13,72	10,91	1,25	0,97	13,46	19,63	1,74	2,08

ALT: alanin aminotransferaza, GGT: gama glutamil transferaza, LDH: laktat dehidrogenaza, β2 mikrogl: beta 2 mikroglobulin. Sr vrijed=srednja vrijednost, ref. vrij.= referentne vrijednosti

Tablica 10 b Nastavak usporedbe nalaza 1998. i 2009. godine u 17 bolesnika

bolesnik	natrij u 24 satnom urinu (ref. vrij.) (120-250mmol/d)		kalij u 24satnom urinu (50-100 mmol/d)		kloridi u 24 satnom urinu (128-257mmol/d)		fosfor u 24 satnom urinu (12,8-64,5mmol/d)		proteini u 24 satnom urinu (25-150mg/d)		β2mikroglobulin u 24satnom urinu (0-0,20mg/d)		leukociti –urin p.nalaz. >2L na svp		eritrociti - urin p.nnalaz >2E na svp	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1	51,3	245,6	10,5	90,33	44,1	235,3	7,3	45,5	110	288	0,10	0,26	1	2	3	1
2	250	185,5	68	60,63	240	193,9	18,8	30,6	142	144	0,14	0,14	3	2	2	2
3	168	186,0	59	64,16	159	181,8	35,9	19,36	74	115	0,05	0,16	2	2	0	0
4	59,4	165,8	27,3	73,6	67,8	232,6	30,2	27,6	160	103	0,107	0,17	2	0	2	1
5	112,3	160,0	26,9	60,8	66,3	163,6	23,4	29,36	70	144	0,106	0,23	4	4	6	1
6	114,5	143,2	27,6	64,1	64,2	161,5	22,8	27,13	160	98	0,03	0,20	3	1	3	0
7	123	167,6	42,7	51,16	117,9	167,7	39,2	75,28	230	161	0,098	0,20	2	0	10	0
8	86	154,6	61	53,06	102	126,6	27,4	26,93	142	207	0,105	0,19	2	1	2	2
9	340	293,3	65	67,86	386	306	28,8	31,33	183	179	0,083	0,14	3	0	4	1
10	138	214,0	48	67,2	155	218,5	19,4	38,76	238	169	0,099	0,18	2	3	4	2
11	40	135,0	20,4	45,5	29	120,76	17,9	23,73	78	134	0,08	0,15	0	2	6	2
12	212,1	252,6	44	62,3	208	248,1	18,3	39,16	252	85	0,18	0,17	2	2	10	1
13	175	131,36	76	45,00	178	136,73	16,9	22,63	43	252	0,20	0,15	3	1	12	1
14	210,6	217,6	88,2	62,96	203,4	186,6	63,0	32,28	310	133	0,088	0,15	4	10	2	10
15	255	235,0	77	79,33	235	288,6	47,0	34,33	320	143	0,099	0,19	4	0	2	0
16	503	411,1	88	80,26	459	379,16	29,0	35,26	199	239	0,29	0,20	3	2	4	2
17	215,8	146,6	48,1	44,33	169	133,3	37,2	24,23	347	151	0,57	0,22	2	0	7	2
<b>Sr. vrij.</b>	<b>179,65</b>	<b>202,64</b>	<b>51,63</b>	<b>63,09</b>	<b>169,63</b>	<b>204,75</b>	<b>28,38</b>	<b>33,15</b>	<b>179</b>	<b>161</b>	<b>0,14</b>	<b>0,18</b>	<b>2,47</b>	<b>1,88</b>	<b>4,65</b>	<b>1,65</b>

p.n.=patološki nalaz, svp=svako vidno polje, sr. Vrij.= srednja vrijednost, ref. vrij.= referentne vrijednosti

U tablici 9. prikazane su vrijednosti mjerenja laboratorijskih parametara 1995. i 2009. godine u dvojice bolesnika čija je bolest bila izazvana virusom Dobrava 1995. godine. Uočljive su niže vrijednosti trombocita ( $13 \times 10^9/L$  i  $112 \times 10^9/L$ ), te više vrijednosti ureje (29,1 mmol/L i 14,4 mmol/L) i kreatinina (848  $\mu\text{mol/L}$  i 514  $\mu\text{mol/L}$ ) u akutnoj fazi u dvojice bolesnika usporedivo s prosječnim vrijednostima (trombociti  $145 \times 10^9/L$ , ureja 16,6 mmol/L, kreatinin 447  $\mu\text{mol/L}$ ). Također, uočljive su i veće vrijednosti proteinurije 2009. godine (173 mg/dan i 213 mg/dan) u odnosu na prosječne vrijednosti (154 mg/dan).

Dio bolesnika obrađen je 1998. godine i potom su navedene usporedne vrijednosti laboratorijskih parametara 1998. godine i 2009. godine. U tablici 10, 10a, 10b prikazane su prosječne vrijednosti hematoloških i biokemijskih nalaza izmjerenih 1998. i 2009. godine. Rezultati mjerenja u 2009. godini u odnosu na rezultate u 1998. godini pokazuju veće srednje vrijednosti sljedećih parametara: urične kiseline (305  $\mu\text{mol/L}$  prema 250  $\mu\text{mol/L}$ ), aspartat aminotransferaze (28 IJ/L prema 17 IJ/L), alanin aminotransferaze (37 IJ/L prema 20 IJ/L) i gama glutamil transferaze (40 IJ/L prema 27 IJ/L). Prosječna vrijednost kreatinina u 24 satnom urinu je veća 2009. godine (13,49 mmol/d prema 19,63 mmol/d).

Prosječna vrijednost proteina u 24h urinu bila je veća 1998. godine nego 2009. godine (179 mg/dan prema 161 mg/dan). Vrijednost  $\beta_2$  mikroglobulina bila je veća 2009. godine (0,14 mg/L prema 0,18 mg/L) (tablica 10 b).

#### ***e) Aparaturne (slikovne) pretrage***

Nalaz scintigrafije bubrega učinjen je u 17 bolesnika. Pokazana je smanjena stopa glomerularne filtracije u 2/17 (11,76 %) bolesnika, a produžena srednja vremena prolaza radiofarmaka kroz kanalni sustav bubrega u 8/17 (47%) bolesnika.



Srednja vrijednost glomerulske filtracije po Leviju (EGFR estimatet glomerular filtration rate) za bolesnike iznosi 88,39 ml/min, a za kontrolnu skupinu 87,93 ml/min. Ova razlika nije statistički značajna.

U tablici 11 prikazane su usporedne vrijednosti stope glomerularne filtracije i tubularne reapsorpcije određene 1998. godine i ponovno nakon 11 godina, 2009. godine.

Scintigrafija bubrega učinjena u 17 bolesnika 1998. godine uspoređena je Mann Whitney testom s nalazima 17 istih bolesnika 2009. godine. Uočava se poboljšanje glomerulske filtracije bubrega 2009. godine u odnosu na 1998. godinu (111 ml/s prema 120 ml/s), iako su vrijednosti u granicama normale.

Tablica 11. Usporedne vrijednosti dinamičke scintigrafije bubrega iz 1998. godine i 2009. godine u 17 bolesnika

Bolesnik	GF (ml/s) 1998. godine	GF (ml/s) 2009. godine	SVP (min) kroz kanalni sustav lijevog bubrega 1998. god.	SVP (min) kroz kanalni sustav lijevog bubrega 2009. god.	SVP (min) kroz kanalni sustav desnog bubrega 1998. god.	SVP (min) kroz kanalni sustav desnog bubrega 2009. god.
1	105,0	118,0	4,5	4,5	5,2	4,5
2	136,0	126,0	4,0	4,5	4,0	4,0
3	100,0	119,0	8,0	5,3	7,0	5,5
4	105,0	126,0	5,6	5,0	6,0	5,0
5	77,0	76,0	4,7	4,5	4,7	7,0
6	115,0	130	4,5	3,0	5,0	5,0
7	118,0	129,0	4,4	5,9	5,6	6,4
8	118,0	133,0	5,3	6,0	4,6	5,6
9	116,0	131,0	5,0	4,1	8,0	5,0
10	110,0	121,0	3,6	3,2	5,5	5,0
11	128,0	141,0	7,3	5,5	7,6	8,5
12	122,0	113,0	5,3	6,2	5,7	5,4
13	125,0	140	5,5	4,9	5,0	4,8
14	98,0	115,0	6,0	8,3	4,0	5,9
15	89,0	101,0	5,4	4,5	5,0	4,5
16	93,0	96,0	4,8	5,0	5,0	4,5
17	121,0	117	4,0	4,5	3,8	5,0
<b>SV</b>	<b>111,74</b>	<b>120,47</b>	<b>5,23</b>	<b>4,98</b>	<b>5,38</b>	<b>5,52</b>
<b>p</b>	<b>p= 0,049</b>		<b>p=1,000</b>		<b>p=0,084</b>	
<b>vrijednost</b>						

GF = glomerulska filtracija, SVP srednje vrijeme prolaza

### ***Dalje aparaturne pretrage***

#### 1) EKG

Blaže promjene na elektrokardiogramu imalo je 32,3% osoba koje su preboljele bolest u odnosu na 13% osoba iz kontrolne skupine. Promjene na EKG-u u skupini bolesnika bile su sljedeće: u tri bolesnika promjene T-vala, tri bolesnika imala su supraventrikularne ekstrasistole (SVES), dva bolesnika usporeno vrijeme provođenja i u jednog bolesnika zabilježene su ventrikularne ekstrasistole. U ispitanika kontrolne skupine dva bolesnika imala su SVES, a u jednog je bilo produljeno vrijeme provođenja.

Učinjeni  $\chi^2$  Fisher exact test pokazao je statistički značajnije pojavljivanje EKG promjena u osoba koje su preboljele HVBS (Fisher  $\chi^2=3,688$ ,  $p=0,052$ ).

Tablica 12. Usporedba nalaza EKG-a u bolesnika i ispitanika kontrolne skupine

Nalaz EKG-a	Bolesnici N=30	Kontrole N=30	$\chi^2$
			Fisher exact test
Uredan	21	27	$\chi^2=3,688$
Patološki	9	3	$p=0,052$

#### 2) OČNI FUNDUS

Tablica 13. Pregled očnog dna u bolesnika i ispitanika kontrolne skupine

Nalaz očnog dna	Bolesnici N=30	Kontrole N=30	$\chi^2$
			Pearson test
Uredan	18	27	$\chi^2=8,80$
Uže krvne žile	6	3	$p=0,012$
Hipertenzivni fundus	6	0	

U tablici 13 dani su rezultati pregleda očnog dna bolesnika i zdravih kontrola. Suženje krvnih žila i hipertenzivni fundus značajno su češći u skupini bolesnika nego u kontrolnoj skupini (Pearson  $\chi^2=8,80$ ,  $p=0,012$ ).

### 3) ULTRAZVUK TRBUHA

Tablica 14. Nalaz ultrazvuka trbuha u bolesnika i ispitanika kontrolne skupine

Ultrazvuk trbuha	Bolesnici N=30	Kontrola N=30	$\chi^2$ Pearson test
Uredan	11	17	$\chi^2=6,043$
Nejasna kortikomedularna granica	17	8	$p=0,012$
Lezija jetre	2	5	

U tablici 14 prikazani su rezultati ultrazvučnog pregleda bubrega i jetre. U 17 bolesnika bila je nejasna kortikomedularna ganica, dok je u ispitanika kontrolne skupine to zabilježeno u samo devet ispitanika. Ova razlika je statistički značajna (Pearson  $\chi^2 = 6,043$ ;  $p = 0,055$ ).

#### ***f) Imunološki parametri-markeri endotelne disfunkcije***

Rezultati obrade imunoloških parametara prikazani su u tablici 15. Marker endotelne disfunkcije učinjeni su u 30 bolesnika i isto toliko ispitanika iz kontrolne skupine. Iako su u skupini bolesnika bile veće vrijednosti P i E-selektina, sICAM-a i VEGF-a, ove razlike nisu bile statistički značajne.

U urinu bolesnika bile su više vrijednosti sVCAM medijan (20,66 ng/mL prema 5,27 ng/mL) nego u kontrolnoj skupini. Razlika nije statistički značajna ( $p=0,088$ ).

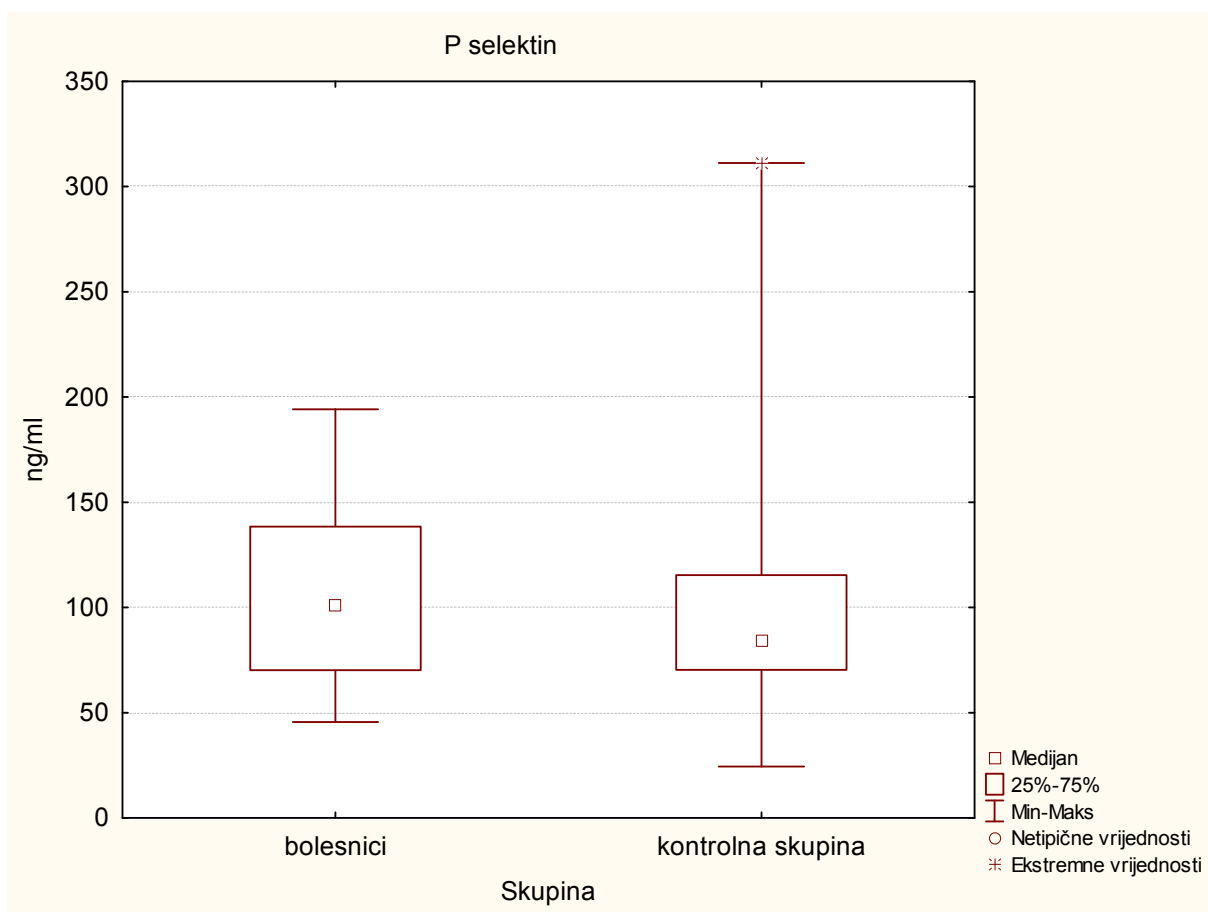
Slike od 1 do 10 pokazuju vrijednosti markera endotelne disfunkcije u skupini bolesnika i ispitanika iz kontrolne skupine.

Iako bi dobivene razlike mogle biti od praktične vrijednosti, zbog raspršenosti podataka i malih vrijednosti, statističkom obradom nisu dobivene značajne razlike.

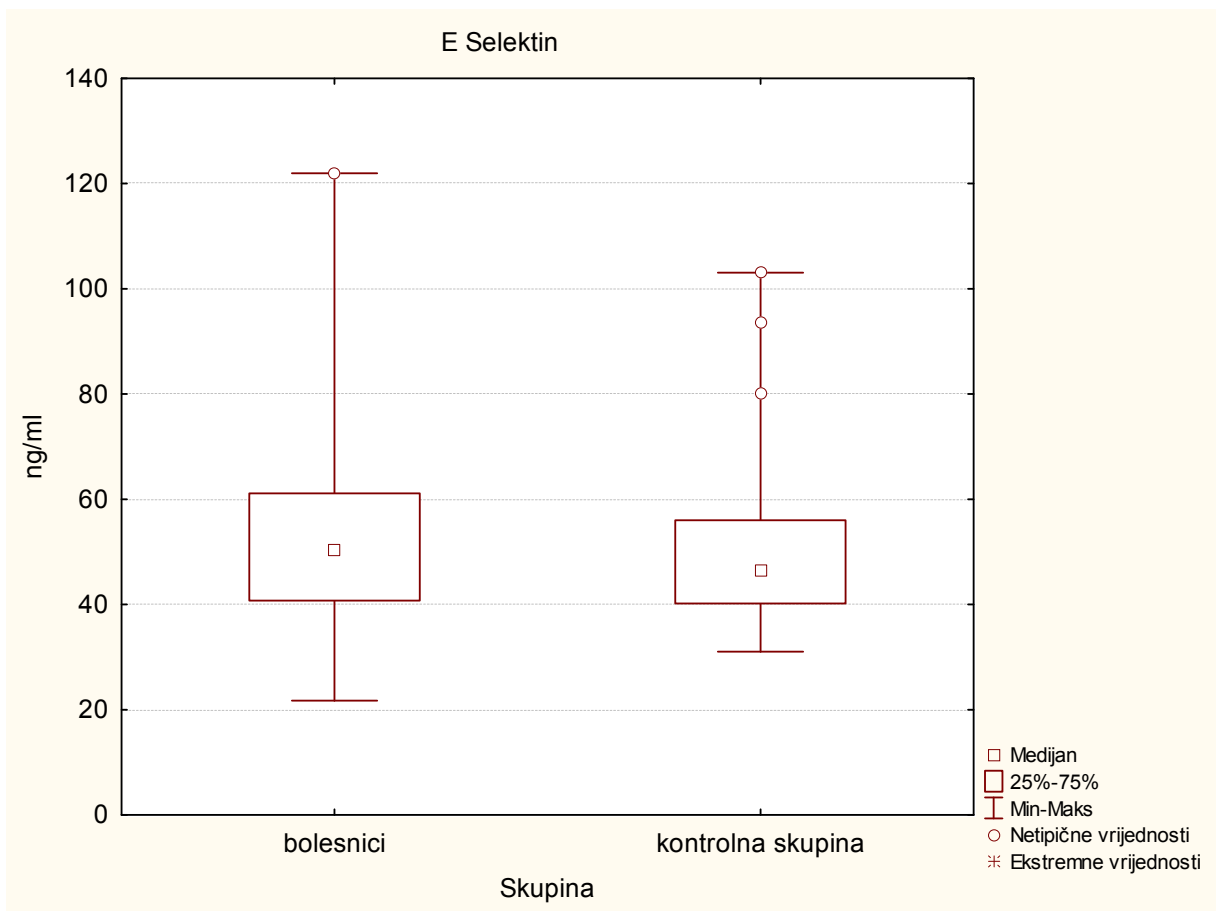
Tablica 15. Nalazi markera endotelne disfunkcije u bolesnika (N=30) i ispitanika kontrolne skupine (N=30)

KRV	MEDIJAN	MIN.	MAKS.	25%	75%	P
	Bolesnici/Kontrola	Bolesnici/Kontrola	Bolesnici/Kontrola	Bolesnici/Kontrola	Bolesnici/Kontrola	
P-selektin (ng/mL)	101,4/84	45,6/24,4	194,2/311,2	71,9/70,4	138,3/115,4	0,265
E-selektin (ng/mL)	50,3/46,3	21,7/31,0	121,9/103,0	40,0/38,3	65,5/56,1	0,505
sICAM (ng/mL)	205,2/165,3	89,9/99,1	566,3/430,4	144,8/139,4	281,1/236,4	0,203
sVCAM (ng/mL)	439,3/507,9	284,6/301,9	698,6/880,5	352,9/424,1	535,1/588,1	0,299
VEGF (pg/mL)	278,5/236,0	57,0/58,0	824,0/960,0	120,0/172,0	425,5/399,0	0,921
<b>URIN</b>						
P-selektin (ng/mL)	0,10/0,11	0,0/0,0	0,37/0,99	0,0/0,0	0,23/0,18	0,382
E-selektin (ng/mL)	0,02/0,02	0,0/0,0	0,36/0,41	0,00/0,00	0,04/0,07	0,948
sICAM (ng/mL)	0,00/0,00	0,0/0,0	1,55/4,0	0,00/0,00	0,22/0,11	0,761
sVCAM (ng/mL)	<b>20,66/5,27</b>	-0,17/0,05	97,0/100,9	3,90/2,62	43,58/26,94	<b>0,080</b>
VEGF (pg/mL)	276,11/242,22	1,11/117	1.847/778,8	215,5/175,56	407,22/388,89	0,294

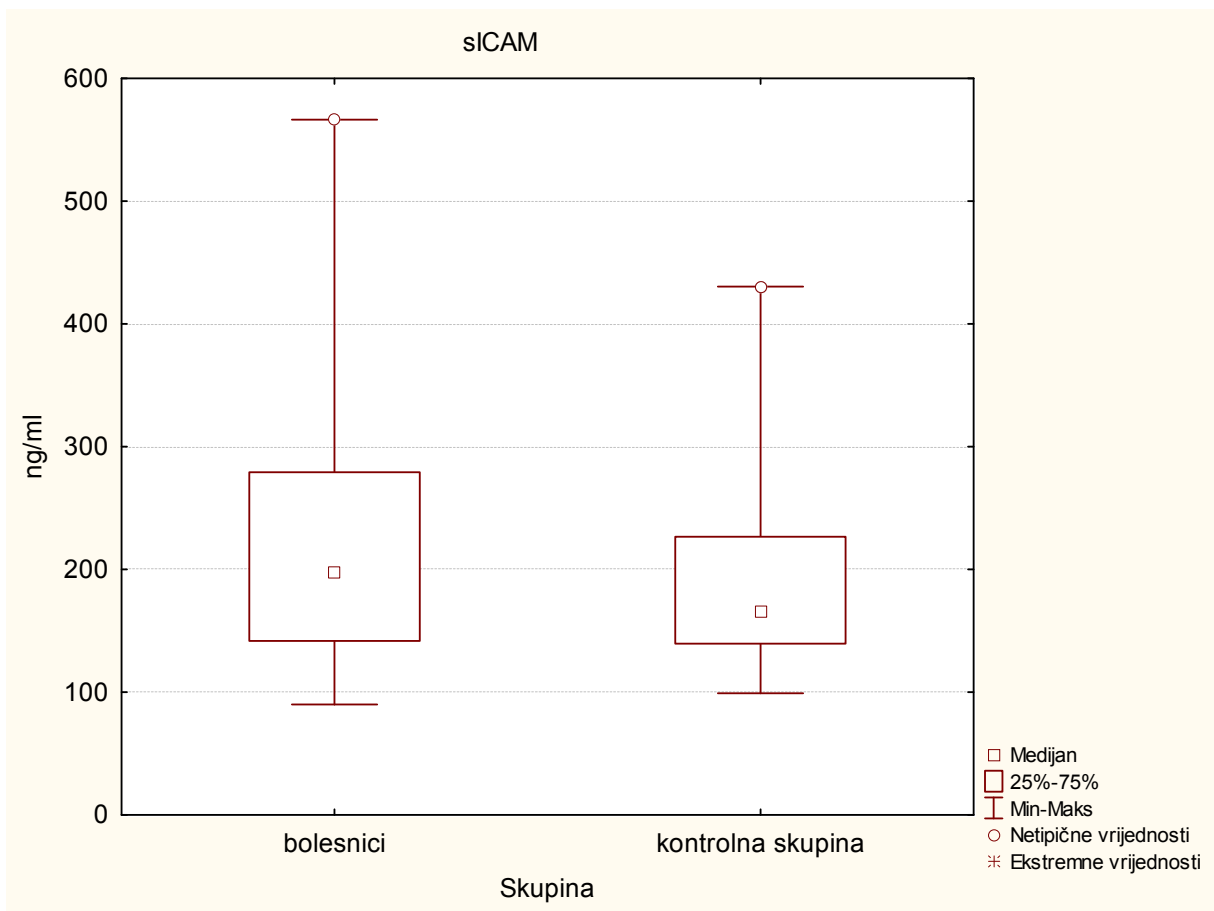
ICAM= međustanična adhezijska molekula, VCAM =vaskularna stanična adhezijska molekula,  
VEGF= vaskularni endotelni faktor rasta



Slika 1. Koncentracija P-selektina u skupini bolesnika i u kontrolnoj skupini

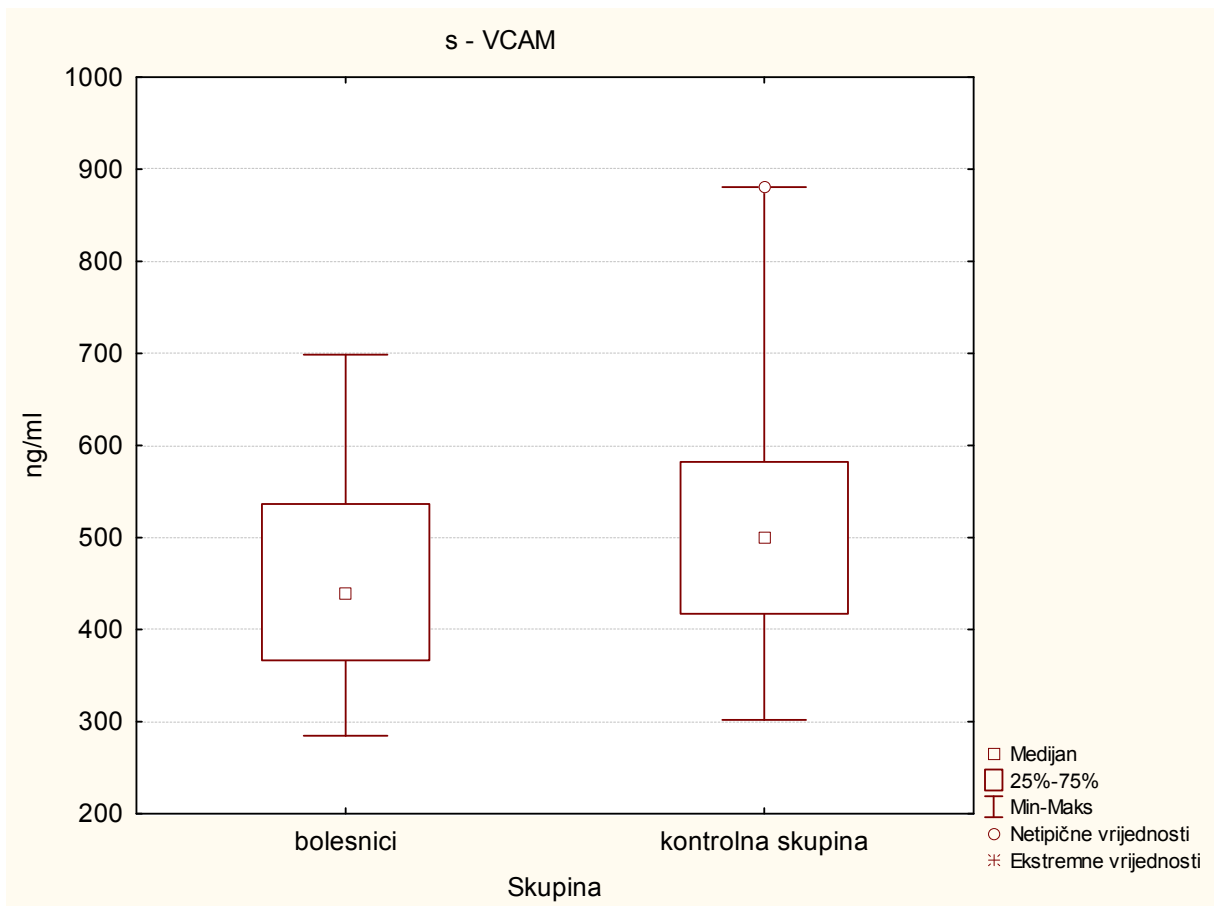


Slika 2. Usporedba koncentracije E-selektina u bolesnika i kontrolne skupine.

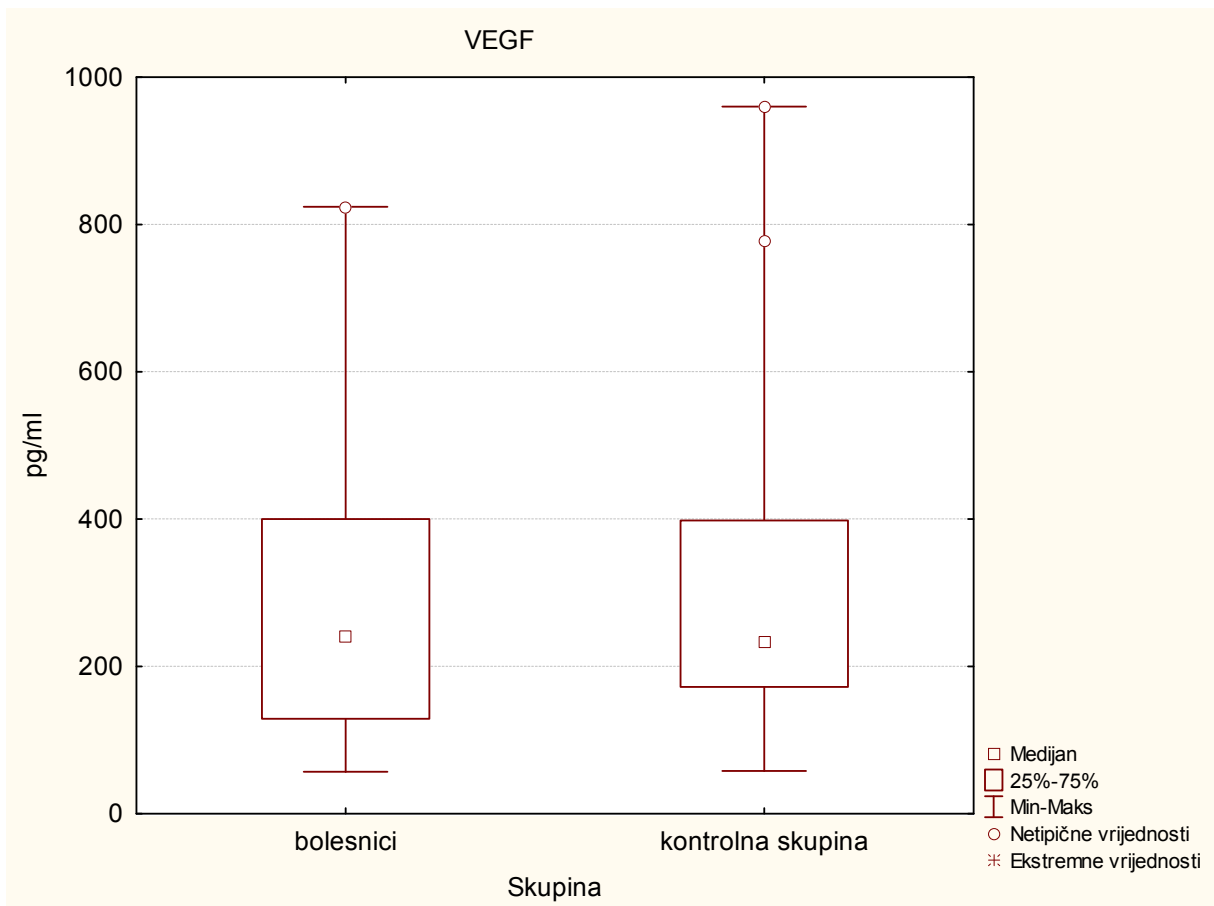


Slika 3. Usporedba koncentracije sICAM u skupini bolesnika i u kontrolnoj skupini

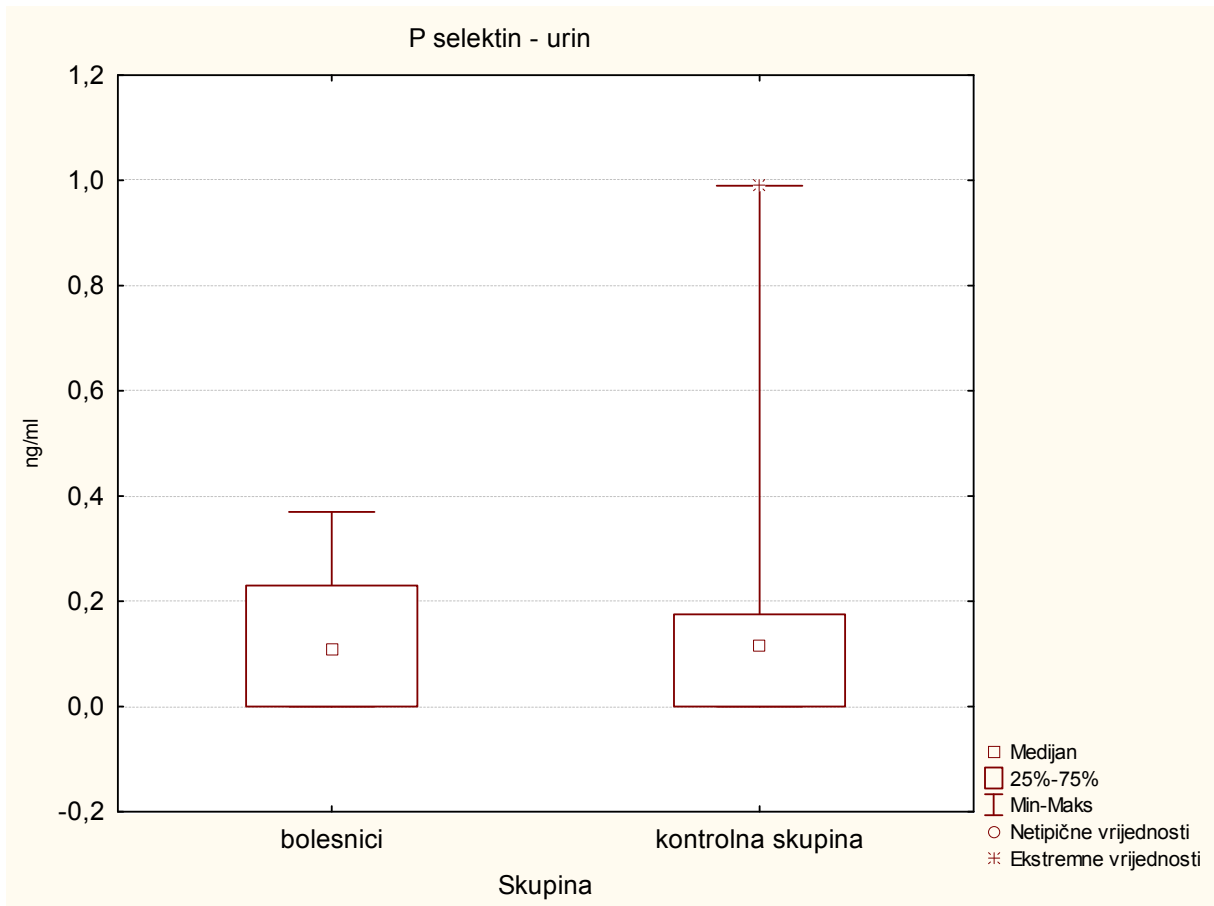




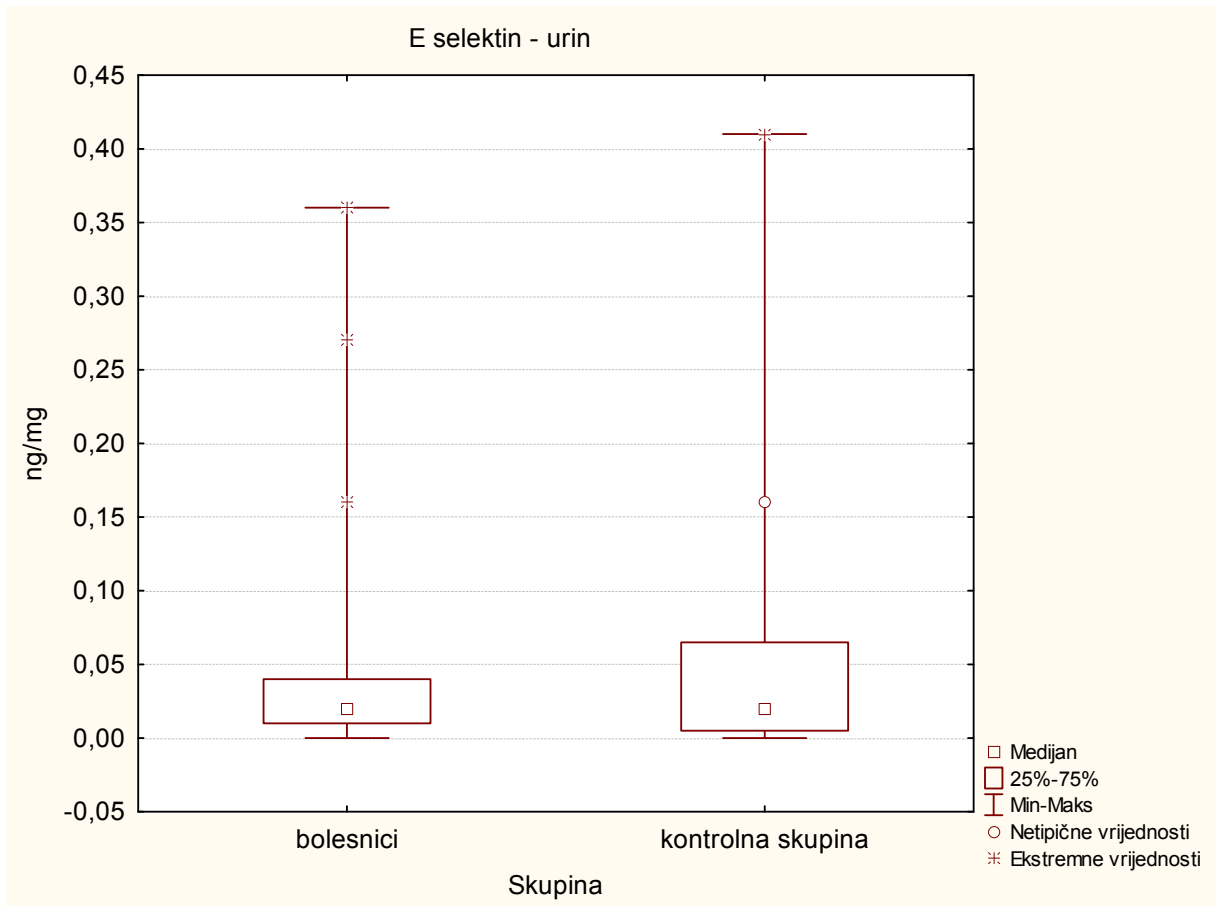
Slika 4. Usporedba koncentracije sVCAM u skupini bolesnika i u kontrolnoj skupini



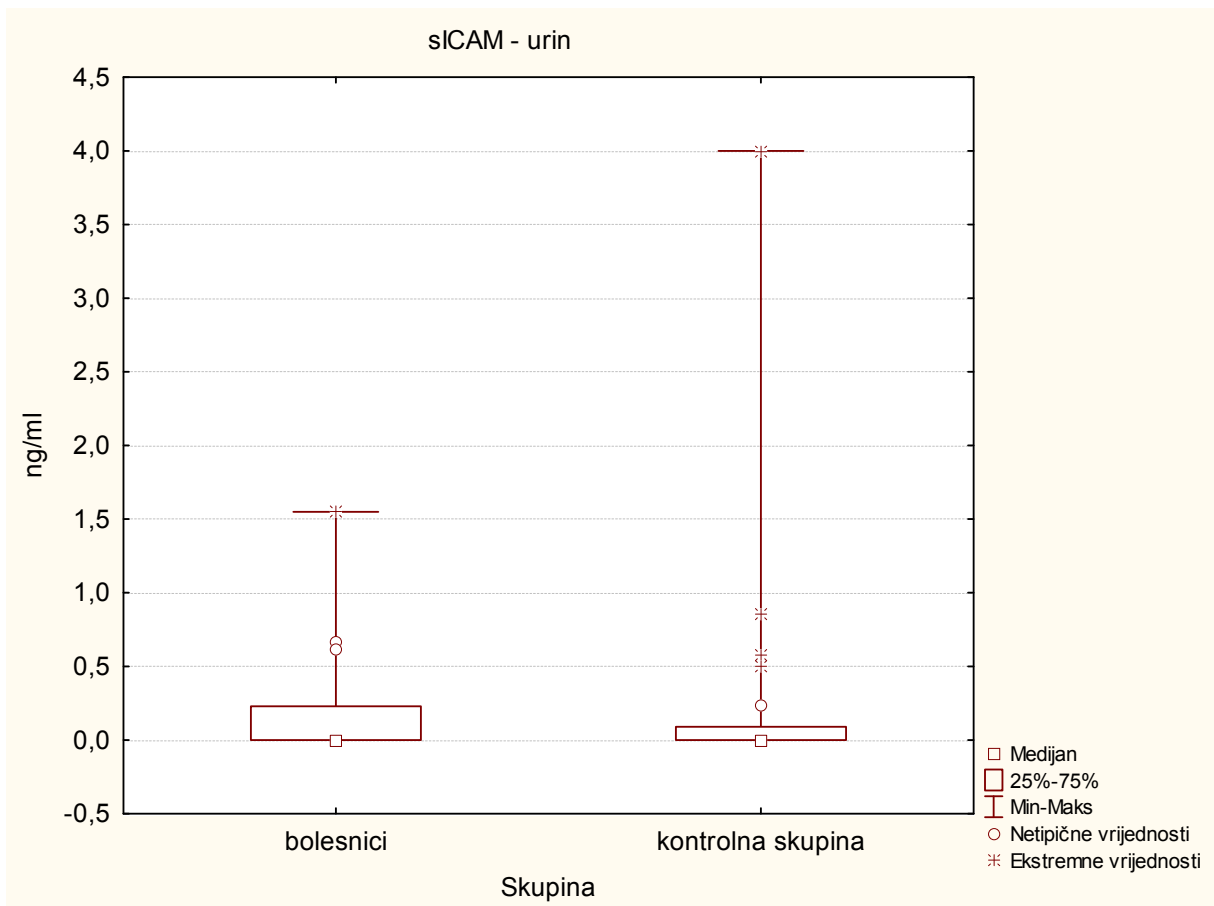
Slika 5. Usporedba koncentracije sVEGF u skupini bolesnika i u kontrolnoj skupini



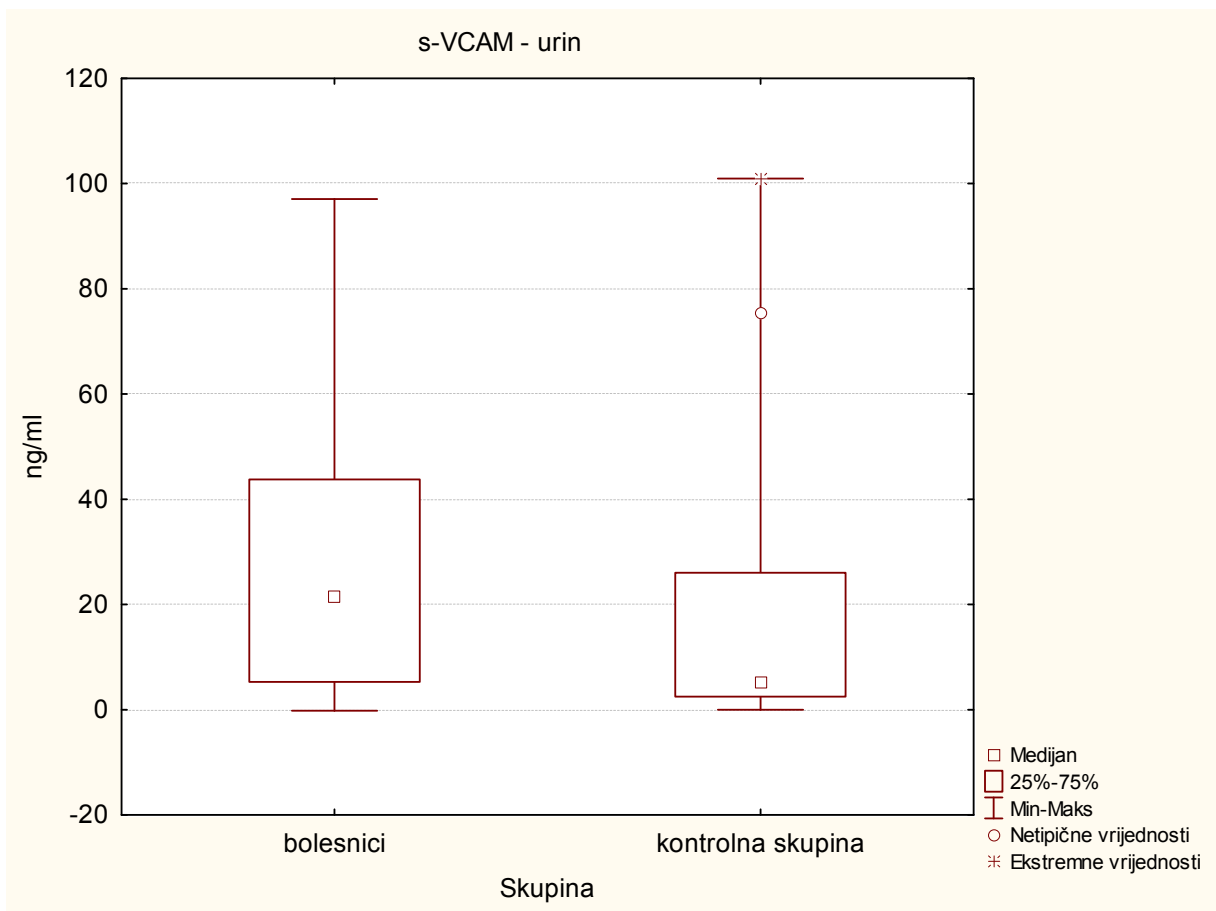
Slika 6. Usporedba koncentracije P-selektina u skupini bolesnika i u kontrolnoj skupini



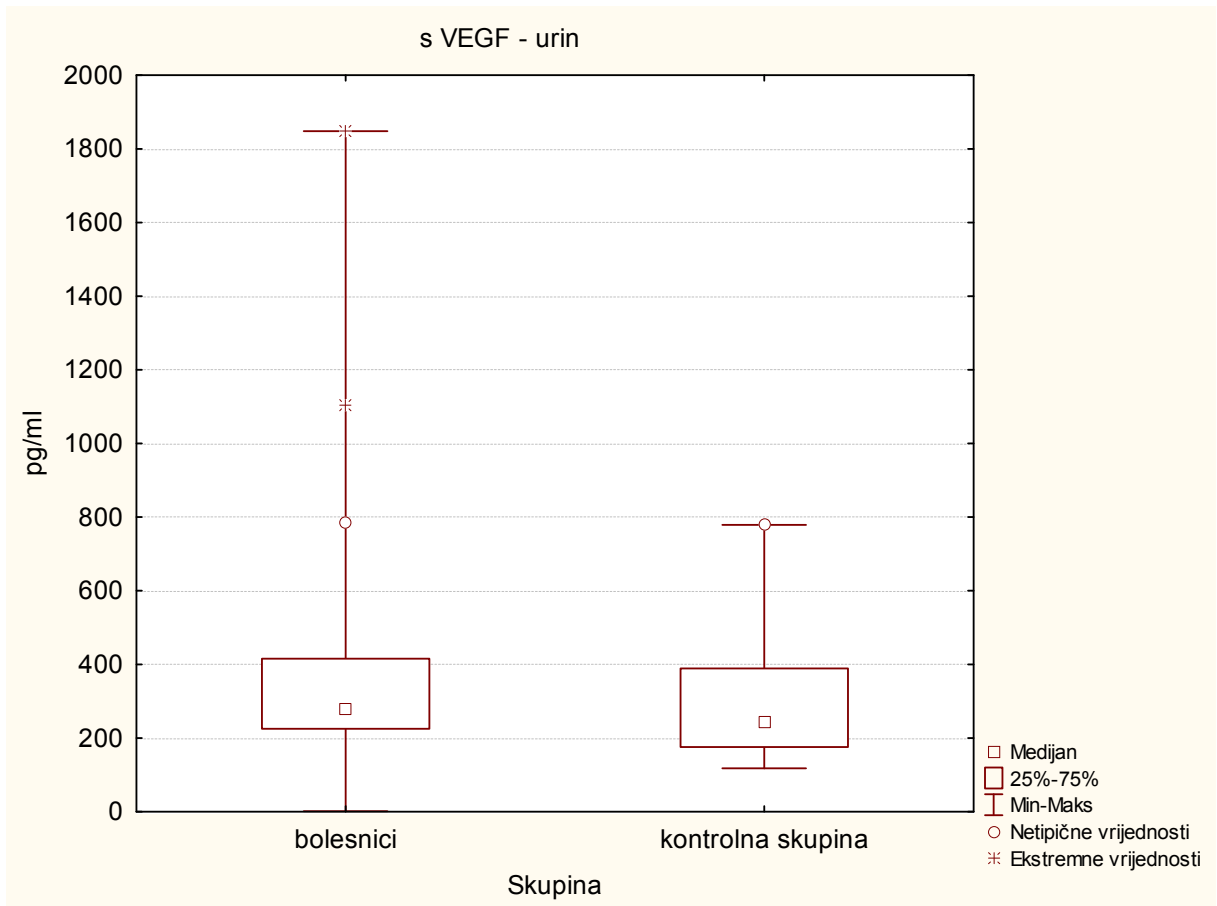
Slika 7. Usporedba vrijednosti E-selektina u urinu između bolesnika i kontrolne skupine



Slika 8. Usporedba vrijednosti sICAM u urinu u skupini bolesnika i u kontrolnoj skupini



Slika 9. Usporedba vrijednosti sVCAM u urinu u skupini bolesnika i u kontrolnoj skupini



Slika 10. Usporedba vrijednosti sVEGF u urinu u skupini bolesnika i u kontrolnoj skupini

Tablica 16. Korelacija zavisnih varijabli u skupini bolesnika (N=30) Spearmanovim testom

Varijabla koja se korelira	Rezultat korelacije		
Urea u serumu (3,6-7,2 mmol/L)	β2mikroglobulin 2. mjerenje u 24satnom urinu Rs=0,404, p=0,027		
CRP (0,0-5,0 mg/L)	Proteini u 24satnom urinu Rs=0,390 p= 0,033	β2mikroglobulin 2. mjerenje u serumu <b>Rs= 0,535,</b> p=0,002	Mikroalbumin 1. mjerenje u 24satnom urinu <b>Rs =0,498</b> P=0,005
Proteini u 24satnom urinu (25-150 mg/d)	Na u 24 satnom urinu Rs=0,409 p=0,025	E selektin urin Rs=0,420 P=0,023	
Mikroalbumin 1. mjerenje u urinu (1,0-30,0 mg/d)	sVCAM u urinu Rs=0,457 P=0,013		
Mikroalbumin 2. mjerenje u urinu (1,0-30,0 mg/d)	sVCAM u krvi Rs=0,370 P=0,044		
β 2 mikroglobulin 2. mjerenje u urinu (0-0,20 mg/L)	1. Osmolalnost urina Rs=0,451 P=0,012		
β 2 mikroglobulin 3. mjerenje u urinu (0-0,20 mg/L)	E-selektin u urinu Rs0,418 P=0,024		
E-selektin serum	VEGF u serumu Rs=0,397 P=0,030		
P-selektin urin	Urati u serumu Rs=0,408 P=0,028		

CRP= C-reaktivni protein, ICAM =međustanična adhezijska molekula, VCAM= vaskularna stanična adhezijska molekula, VEGF= vaskularni endotelni faktor rasta

U tablici 16 prikazane su korelacije zavisnih varijabli u skupini bolesnika. Vrijednosti ureje u serumu koreliraju s vrijednošću β2mikroglobulina 2.mjerenje u 24h urinu. Vrijednosti CRP-a koreliraju s proteinima u 24h urinu, te s vrijednošću mikroalbumina i β2 mikroglobulinom 2 mjerenje u 24h urinu. Postoji također pozitivna korelacija proteina u urinu i E-selektina.



Također se vidi da vrijednosti mikroalbumina,  $\beta$ 2mikroglobulina u 24h urinu i urata u serumu koreliraju s pojedinim markerom endotelne disfunkcije.

Tablica 17. Rezultat multivarijantne logističke regresije

	B	S.E.	Wald	df	Sig	Odds ratio
CRP	0,990	0,549	3,253	1	0,071	<b>2,691</b>
Mikroalbumini u 24 <sup>h</sup> urinu /2. mjerenje/	0,388	0,196	3,914	1	0,048	<b>1,474</b>
Mikroalbumini u 24 <sup>h</sup> urinu /3. mjerenje/	0,622	0,288	4,660	1	0,031	<b>1,862</b>
sVCAM serum	-0,026	0,013	4,080	1	0,043	0,974
VEGF urin	0,015	0,007	4,177	1	0,041	<b>1,015</b>

CRP= C-reaktivni protein, VCAM= vaskularna stanična adhezijska molekula, VEGF= vaskularni endotelni faktor rasta

Tablica 18. Osjetljivost izvedenog testa

Ispitanici	Predviđanje		Postotak točnosti
	Skupina	Bolesnici	
Kontrolna skupina	24	3	88,9
Bolesnici	2	27	<b>93,1</b>
Ukupni postotak			<b>91,1</b>

U bolesnika koji su prethodno preboljeli hemoragijsku vrućicu s bubrežnim sindromom može se temeljem multivarijantne logističke regresije zaključiti da bi sljedeći parametri mogli biti pokazatelji razvoja kroničnih sekvela: CRP, mikroalbumini u 24h urinu, VEGF u urinu, a moguće i sVCAM u serumu.

## **5.1 RAZLIKE IZMEĐU LABORATORIJSKIH I KLINIČKIH PARAMETARA U BOLESNIKA S HVBS-om KOJI SU IMALI LAKU I SREDNJE TEŠKU KLINIČKU SLIKU BOLESTI**

U ovom dijelu prikazani su rezultati mjerenja u dvije podskupine bolesnika, bolesnika s lakim tijekom bolesti (N=11) i bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti (N=17). Nalazi su poredani sljedećim redoslijedom: vrijednosti krvnog tlaka, hematološki nalazi, biokemijski nalazi u serumu, nalazi u 24-satnom urinu te konačno markeri endotelne disfunkcije.

U tablici 19 dani su rezultati mjerenja krvnog tlaka u dvije podskupine bolesnika. Vrijednosti krvnog tlaka statistički su značajno povećane u jednome mjerenju sistoličkog tlaka u ležećem položaju u bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti [lak/srednje težak tijek (medijan 120/130 mmHg,  $p=0,043$ )], dok su one granične u po jednome mjerenju sistoličkog tlaka u sjedećem položaju (medijan 120/130 mmHg,  $p=0,062$ ) i u jednome mjerenju sistoličkog tlaka u ležećem položaju (medijan 125/135 mmHg,  $p=0,071$ ). U jednome mjerenju srednjeg arterijskog tlaka također je uočljiva razlika uz lak/srednje težak tijek, medijan (96,6/103,3 mmHg,  $p=0,082$ ).

U tablici 20 prikazane su vrijednosti hematoloških nalaza u dvije podskupine bolesnika. Nije bilo statistički značajne razlike u promatranim parametrima između bolesnika s lakim tijekom i srednje teškim tijekom bolesti. Usporedbom hematoloških nalaza bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti vidi se da bolesnici sa srednje teškim tijekom bolesti imaju nešto veće vrijednosti medijana sljedećih parametara: sedimentacija eritrocita (medijan 5 mm/h prema 8 mm/h) i Von Willebrandova faktora (medijan 1,09 prema 1,33)

U tablici 21 prikazane su vrijednosti biokemijskih nalaza u dvije podskupine bolesnika. Vrijednost CRP je nešto veća u bolesnika sa srednje teškim tijekom nego u bolesnika s lakim tijekom bolesti (medijan 2,4 mg/L prema 2,2 mg/mL). Vrijednosti IgA veće su u bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti (medijan 2,87 g/L prema 1,74/g/L,  $p=0,041$ ).

U tablici 22 prikazane su vrijednosti biokemijskih nalaza u 24-satnom urinu. U jednome mjerenju vrijednosti natrija u 24-satnom urinu veće su u bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti (medijan 217,0 mmol/dan prema 160 mmol/dan,  $p=0,038$ ). U jednome mjerenju vrijednosti mikroalbumina u 24-satnom urinu veće su u bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti (medijan 16,0 mmol/d prema 9,0 mmol/d,  $p=0,060$ ).

U tablici 23 i na slikama od 11 do 20 prikazane su vrijednosti markera endotelne disfunkcije u bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti. Nisu dobivene značajnije razlike u koncentraciji markera endotelne disfunkcije u bolesnika sa srednje teškim i lakim tijekom bolesti. Jedino je vrijednost VEGF-a u serumu bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti bila viša u odnosu na one bolesnike s lakim tijekom bolesti.

Tablica 19. Vrijednosti krvnog tlaka u bolesnika s obzirom na stupanj težine bolesti 1995. godine laki (N=11) i srednje teški (N=17)

Nalaz krvnog tlaka		MEDIAN	MIN.	MAKS.	25%	75%	P
		lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	
RR sjedeći sistolički	I. mjerenje	130,0/130,0	100,0/110,0	150,0/150,0	120,0/125,0	140,0/140,0	0,418
	II. mjerenje	120,0/130,0	110,0/110,0	150,0/150,0	115,0/127,5	130,0/140,0	<b>0,062</b>
	III. mjerenje	125,0/130,0	115,0/110,0	140,0/155,0	120,0/122,5	135,0/140,0	0,206
RR sjedeći dijastolički	I. mjerenje	80,0/85,0	60,0/70,0	105,0/120,0	70,0/77,5	95,0/92,5	0,363
	II. mjerenje	85,0/90,0	60,0/70,0	95,0/95,0	75,0/90,0	82,5/92,5	0,385
	III. mjerenje	90,0/90,0	60,0/75,0	100,0/100,0	80,0/95,0	82,0/92,5	0,599
SAT sjedeći	I. mjerenje	85,0/93,3	70,0/73,3	120,0/116,6	89,9/109,9	93,3/109,9	0,321
	II. mjerenje	98,3/103,3	76,6/83,3	109,9/109,9	91,6/103,3	98,3/107,4	0,164
	III. mjerenje	103,3/103,3	81,6/88,3	109,9/118,3	93,3/108,3	94,9/109,9	0,962
Tlak pulsa sjedeći	I. mjerenje	45,0/45,0	35,0/20,0	60,0/60,0	40,0/50,0	40,0/57,5	0,886
	II. mjerenje	40,0/45,0	25,0/30,0	60,0/60,0	25,0/40,0	50,0/50,0	0,615
	III. mjerenje	40,0/45,0	25,0/25,0	65,0/60,0	25,0/45,0	40,0/50,0	0,186
RR ležeći sistolički	I. mjerenje	120,0/130,0	105,0/120,0	150,0/150,0	120,0/130,0	127,5/140,0	<b>0,043</b>
	II. mjerenje	125,0/135,0	110,0/100,0	145,0/160,0	120,0/127,5	135,0/145,0	<b>0,071</b>
	III. mjerenje	130,0/135,0	110,0/115,0	140,0/150,0	120,0/122,5	140,0/140,0	0,280
RR ležeći dijastolički	I. mjerenje	80,0/90,0	60,0/70,0	100,0/100,0	65,0/90,0	82,5/92,5	0,181
	II. mjerenje	80,0/85,0	75,0/65,0	92,0/100,0	75,0/77,5	90,0/90,0	0,429
	III. mjerenje	90,0/90,0	65,0/65,0	95,0/105,0	80,0/80,0	95,0/90,0	0,733
SAT ležeći	I. mjerenje	96,6/103,3	74,9/88,3	109,9/113,3	81,6/108,3	98,3/108,3	0,120
	II. mjerenje	96,6/103,3	89,9/76,6	108,3/114,9	91,6/98,3	99,9/107,4	0,082
	III. mjerenje	103,3/103,3	79,9/84,9	109,9/118,3	89,9/98,3	103,3/106,6	0,464
Tlak pulsa ležeći	I. mjerenje	45,0/45,0	30,0/35,0	60,0/60,0	35,0/40,0	55,0/52,5	0,793
	II. mjerenje	45,0/45,0	23,0/35,0	55,0/60,0	35,0/40,0	55,0/57,5	0,476
	III. mjerenje	45,0/45,0	25,0/30,0	60,0/70,0	40,0/40,0	55,0/50,0	0,668

RR= Riva Rocci, SAT= srednji arterijski tlak

Tablica 20. Deskriptivna statistika vrijednosti hematoloških nalaza između bolesnika s lakim tijekom (N=11) i srednje teškim tijekom bolesti (N=17)

Nalazi	Referentne vrijednosti	MEDIJAN	MIN.	MAKS.	25%	75%	P
		lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	
Sedimentacija	4-24 mm/h	5/8	3/1	31/27	3/4	6/10	0,381
Leukociti	3,4 -9,7 10 <sup>9</sup> /L	7,9/6,3	4,2/3,9	9,7/12,2	5,4/5,2	9,4/7,6	0,196
Eritrociti	4,34-5,72 10 <sup>12</sup> /L	5,00/4,80	4,20/4,30	5,70/6,00	4,60/4,60	5,10/5,76	0,962
Hemoglobin	138-175 g/L	150/151	134/130	168/178	145/138	164/158	0,741
Trombociti	158-424 10 <sup>9</sup> /L	238/230	183/149	492/277	206/197	299/257	0,452
Von Willebrandov faktor	0,50-1,50	1,09/1,33	0,64/0,84	1,80/1,56	1,01/1,15	1,58/1,51	0,572
D-dimeri	<0,5mg/L	0,2/0,2	0,1/0,1	0,6/0,7	0,1/0,1	0,4/0,2	0,229

Tablica 21. Deskriptivna statistika vrijednosti biokemijskih nalaza između bolesnika s lakim tijekom (N=11) i srednje teškim tijekom bolesti (N=17)

Nalazi	Referentne vrijednosti	MEDIJAN	MIN.	MAKS	25%	75%	P
		lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	
Guk	4,4-6,4 mmol/L	5,2/5,8	4,2/4,4	6,5/7,5	4,9/4,7	5,5/6,6	0,346
Bilirubin	5,1-22,2 μmol/L	12,3/13,0	6,6/8,0	25,1/21,7	9,3/10,2	16,3/15,0	0,962
AST	1-37 J/L	22/24	14/14	41/59	19/20	28/34	0,278
ALT	1-39 J/L	26/36	14/19	76/98	21/26	31/45	<b>0,052</b>
LDH	110-241 J/L	161/	124/116	220/262	130/148	187/181	0,451
Urat u krvi	142-416 μmol/L	280/268	170/155	465/490	240/225	340/375	0,962
T3	1,26-2,75 nmol/L	1,80/1,80	1,60/1,18	2,27/2,16	1,74/1,60	1,99/2,04	0,396
T4	58,00-161,00 nmol/L	92,00/89,00	75,00/76,00	120,00/139,00	82,00/78,98	108,00/101,96	0,707
CRP	0,0-5,0 mg/L	2,2/ <b>2,4</b>	0,9/0,5	22,0/16,0	1,2/1,3	15,0/11,4	1,000
IgA	0,70-4,00 g/L	1,74/2,87	1,16/0,94	4,38/6,44	1,47/2,21	3,00/3,74	<b>0,041</b>
IgM	0,40-2,30 g/L	0,74/0,69	0,41/0,38	1,30/1,71	0,60/0,58	1,20/1,06	0,832
IgG	7,00-16,00 g/L	9,69/10,90	6,80/2,70	12,20/20,60	7,93/9,20	11,17/12,86	0,145
Urea u krvi	3,6-7,2 mmol/L	6,0/5,7	2,4/4,2	7,4/7,3	4,4/4,6	6,6/6,3	0,706
Kreatinin u krvi	44-106 μmol/L	83/90	72/72	104/105	75/83	100/93	0,451

Legenda: GuK= glukoza u krvi, AST= aspartataminotransferaza, ALT= alaninaminotransferaza, LDH= laktatdehidrogenaza, T3= trijodtironin, T4 =tiroksin, CRP= C-reaktivni protein, IgA= imunoglobulin A, IgM= imunoglobulin M, IgG= imunoglobulin G

Tablica 22. Vrijednosti biokemijskih parametara u 24-satnom urinu između bolesnika s lakim tijekom bolesti (N=11) i srednje teškim tijekom bolesti (N=17).

Nalazi	Referentne vrijednosti	MEDIAN	MIN.	MAKS	25%	75%	P	
		lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak		
Urea	I. mjerenje	320/345	57/257	608/665	278/309	396/387	0,359	
	II. mjerenje	250-570 mmol/d	360/340	213/180	508/640	253/278	390/406	0,962
	III. mjerenje		260/342	214/230	458/640	246/274	390/470	0,138
Kreatinin	I. mjerenje	16,80/19,70	9,30/11,60	48,00/90,00	13,10/16,70	26,00/28,95	0,188	
	II. mjerenje	7,00-25,00mmol/d	19,30/18,50	13,40/9,33	28,30/30,20	15,45/16,10	25,78/21,99	0,869
	III. mjerenje		21,93/17,60	14,00/10,50	89,00/31,50	16,10/16,20	23,00/23,36	0,323
Kreat. klirens	I. mjerenje	2,30/2,00	1,12/0,30	2,66/3,60	2,10/1,85	2,46/2,55	0,510	
	II. mjerenje	1,20-2,40 ml/s	2,28/2,14	0,50/1,66	3,10/3,05	1,12/1,84	2,52/2,55	0,651
	III. mjerenje		2,13/2,18	1,50/0,91	3,10/3,10	1,94/1,80	2,60/2,48	0,760
Na	I. mjerenje	160,0/217,0	97,0/100,5	222,0/465,0	103,0/138,7	179,0/249,9	0,038	
	II. mjerenje	120,0-250,0 mmol/d	140,0/206,0	42,3/20,3	326,0/503,0	76,0/118,6	224,0/250,5	0,480
	III. mjerenje		223,0/211,7	140,0/115,0	274,0/340,0	179,0/154,1	255,0/266,7	0,906
K	I. mjerenje	64,0/78,0	27,0/35,9	90,0/130,0	32,8/52,0	79,0/102,6	0,158	
	II. mjerenje	50,0-100,0 mmol/d	47,6/58,0	10,5/41,0	90,0/128,0	34,0/46,9	68,0/74,4	0,188
	III. mjerenje		71,5/60,0	35,0/33,8	128,8/100,9	54,0/45,1	91,0/67,9	0,105
Cl	I. mjerenje	168,0/210,0	45,2/94,0	249,0/497,0	110,0/149,0	219,0/262,5	0,221	
	II. mjerenje	128,0-257,0 mmol/d	132,0/208,5	31,6/103,0	323,0/459,0	63,0/123,1	226,0/242,5	0,145
	III. mjerenje		203,1/220,0	115,0/125,0	296,0/386,0	167,0/175,4	285,5/256,3	0,944

Legenda: Na= natrij, K= kalij, Cl= klor

Tablica 22 a. Vrijednosti biokemijskih parametara u 24h urinu u bolesnika s lakim tijekom i srednje teškim tijekom bolesti

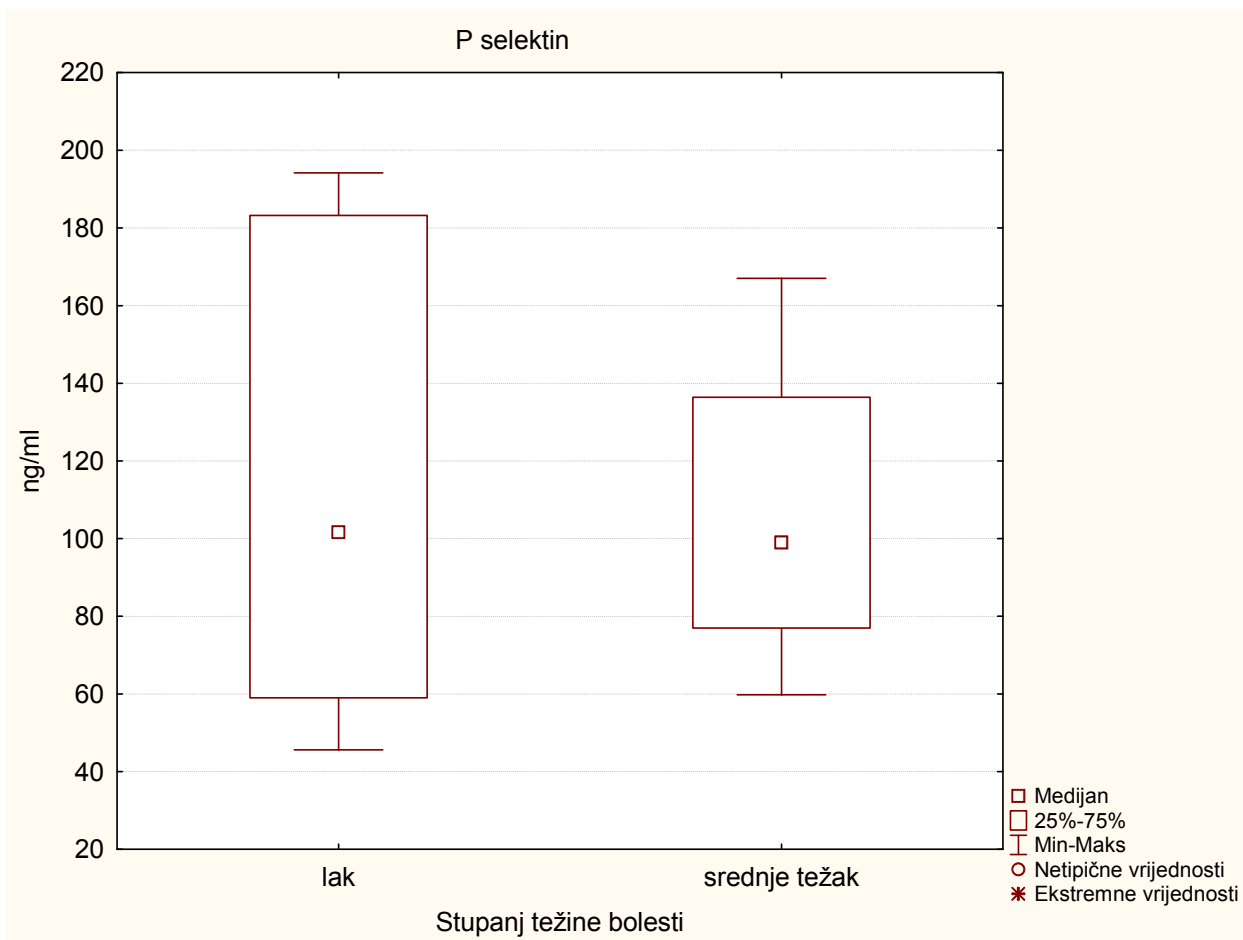
Nalazi		Referentne vrijednosti	MEDIJAN	MIN.	MAKS	25%	75%	P
			lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	lak oblik/srednje težak	
Fosfor	I. mjerenje	12,80 -64,50 mmol/d	27,20/32,60	17,60/19,10	55,70/83,00	24,00/23,07	36,65/54,00	0,347
	II. mjerenje		30,00/32,00	17,00/14,00	57,50/54,90	24,35/28,80	44,05/34,00	0,962
	III. mjerenje		26,92/25,00	18,90/18,80	55,00/56,30	25,00/23,00	38,33/35,20	0,384
Magnezij	I. mjerenje	3,00-5,00 mmol/d	3,90/4,10	1,80/1,70	6,60/11,10	2,95/3,32	4,20/6,20	0,230
	II. mjerenje		4,40/4,90	0,29/0,70	10,00/32,20	2,34/2,16	5,57/6,60	0,451
	III. mjerenje		3,68/3,90	2,00/1,61	6,01/7,40	2,90/2,40	5,30/5,07	0,962
Kalcij	I. mjerenje	2,50-7,50 mmol/d	4,27/4,30	0,70/2,20	8,00/10,40	3,04/3,20	5,65/6,30	0,397
	II. mjerenje		6,20/6,10	2,09/2,13	8,96/9,13	5,45/3,40	7,65/8,50	0,510
	III. mjerenje		3,96/6,07	1,90/2,09	7,92/9,13	2,60/2,85	5,50/8,10	0,138
Proteini	I. mjerenje	25-150 mg/d	178/132	48/71	695/213	99/107	297/186	0,557
	II. mjerenje		119/128	49/43	216/347	89/78	150/198	0,638
	III. mjerenje		157/129	78/51	262/238	113/97	216/144	0,095
Mikroalbumini	I. mjerenje	1,0-30,0 mg/d	12,9/7,0	3,3/0,2	383,0/290,0	5,5/5,3	33,5/10,9	0,240
	II. mjerenje		<b>9,0/16,0</b>	0,0/6,0	23,0/60,2	4,6/11,6	14,5/20,0	<b>0,060</b>
	III. mjerenje		12,6/6,9	3,0/2,7	131,0/44,3	3,4/6,3	30,0/15,3	0,480
$\beta^2$ mikroglobulin	I. mjerenje	0-0,20 mg/L	0,20/0,20	0,16/0,13	0,28/0,71	0,17/0,18	0,20/0,20	1,000
	II. mjerenje		0,19/0,20	0,10/0,08	0,31/0,33	0,13/0,18	0,22/0,20	0,632
	III. mjerenje		0,19/0,17	0,14/0,05	0,22/0,71	0,18/0,15	0,20/0,18	<b>0,058</b>
Osmolalnost		300-900 mOsm/kgH <sub>2</sub> O	789/840	574/582	996/924	690/800	874/890	0,621
Specifična težina		1.002-1.030 kg/m <sup>3</sup>	1,020/1,020	1,005/1,010	1,030/1,030	1.015/1.018	1.025/1.025	0,643



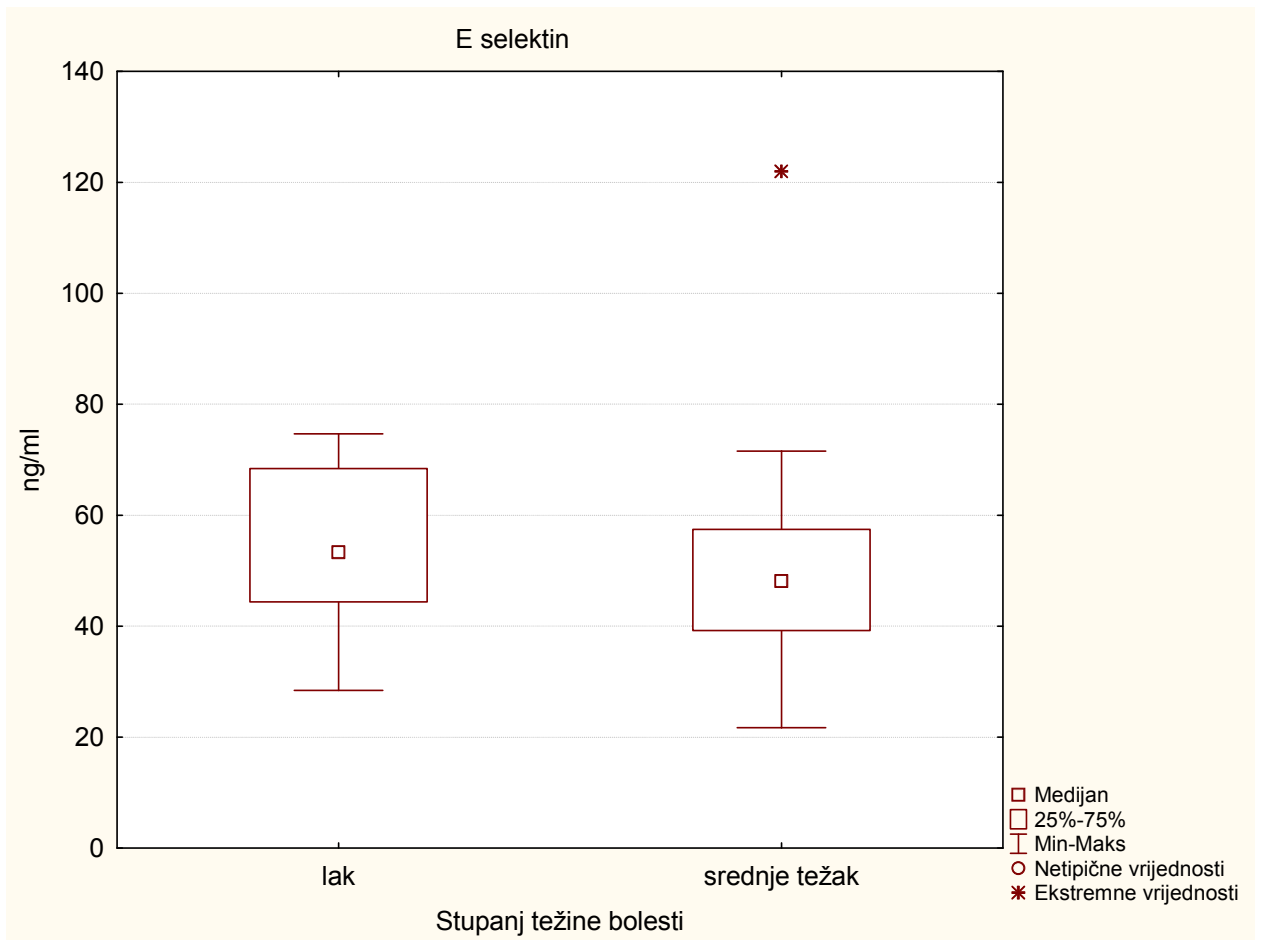
Tablica 23. Vrijednosti markera endotelne disfunkcije u bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti.

KRV	MEDIJAN	MIN.	MAKS	25%	75%	P
	lak/srednje težak	lak/srednje težak	lak/srednje težak	lak/srednje težak	lak/srednje težak	
P-selektin (ng/ml)	101,6/99,0	45,6/59,8	194,2/167,0	59,0/73,6	183,2/137,3	0,760
E-selektin (ng/ml)	53,3/48,1	28,4/21,7	74,6/121,9	44,4/39,1	68,3/57,4	0,240
sICAM (ng/ml)	228,7/193,3	115,6/189,9	566,3/428,3	164,2/137,2	346,5/229,8	0,180
sVCAM (ng/ml)	504,7/434,2	313,2/284,6	698,6/694,0	386,0/343,8	576,0/543,9	0,525
VEGF (pg/ml)	166,0/291,0	102,0/81,0	709,0/824,0	129,0/128,5	585,0/415,5	0,981
<b>URIN</b>						
P-selektin ng/ml)	0,10/0,04	0,0/0,0	0,31/0,31	0,01/0,00	0,21/0,24	0,684
E-selektin (ng/ml)	0,03/0,02	0,00/0,00	0,36/0,27	0,01/0,00	0,10/0,04	0,204
s ICAM (ng/ml)	0,00/0,00	0,00/0,00	0,62/1,55	0,00/0,00	0,11/0,25	0,456
sVCAM (ng/ml)	40,07/9,22	-0,17/0,16	66,56/97,07	15,27/2,61	50,05/33,20	0,167
VEGF (pg/ml)	291,11/277,79	203,3/1,11	1104/1847	266,4/173,3	531,1/478,89	0,366

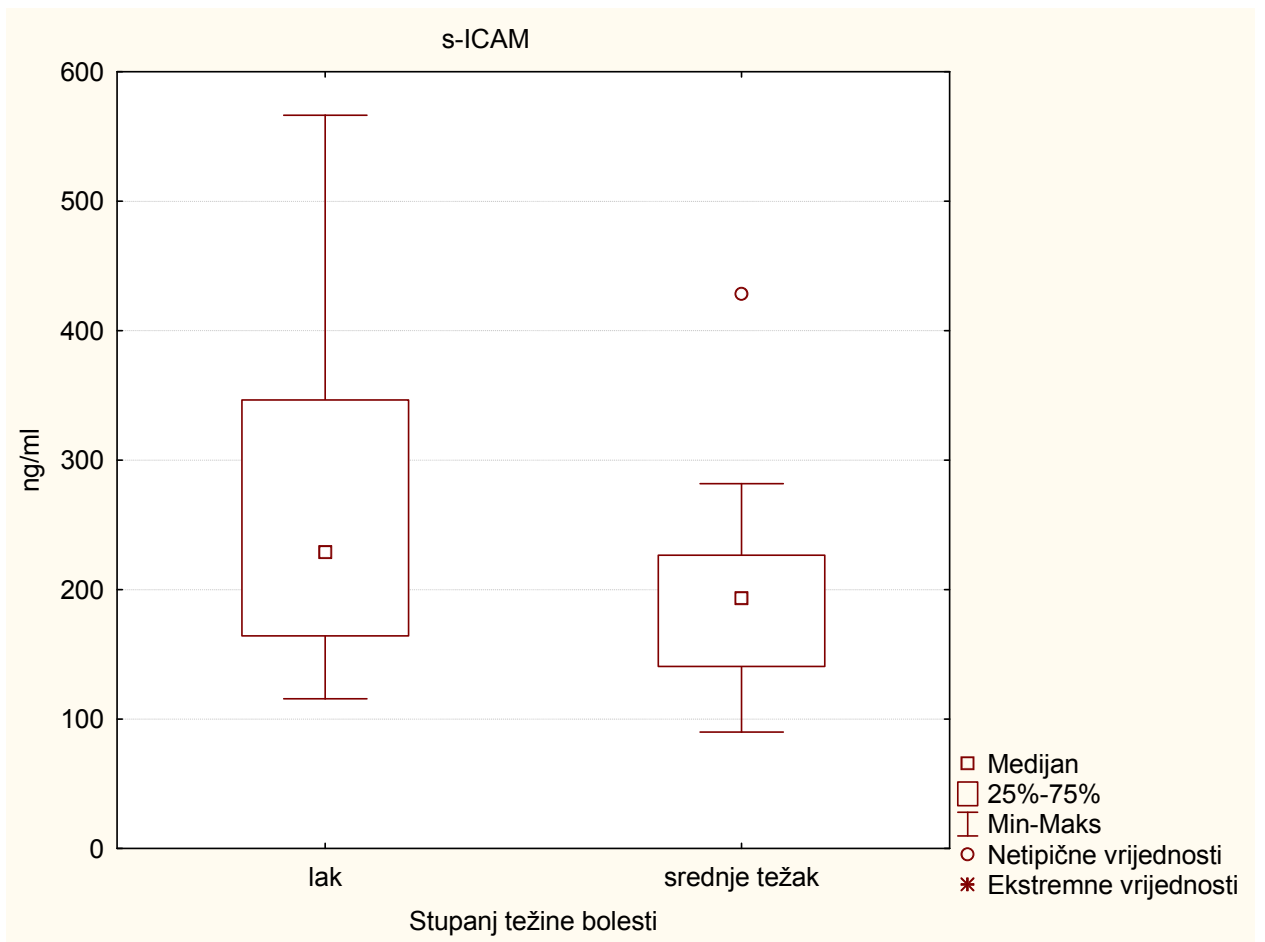
ICAM= međustanična adhezijska molekula, VCAM= vaskularna stanična adhezijska molekula, VEGF= vaskularni endotelni faktor rasta



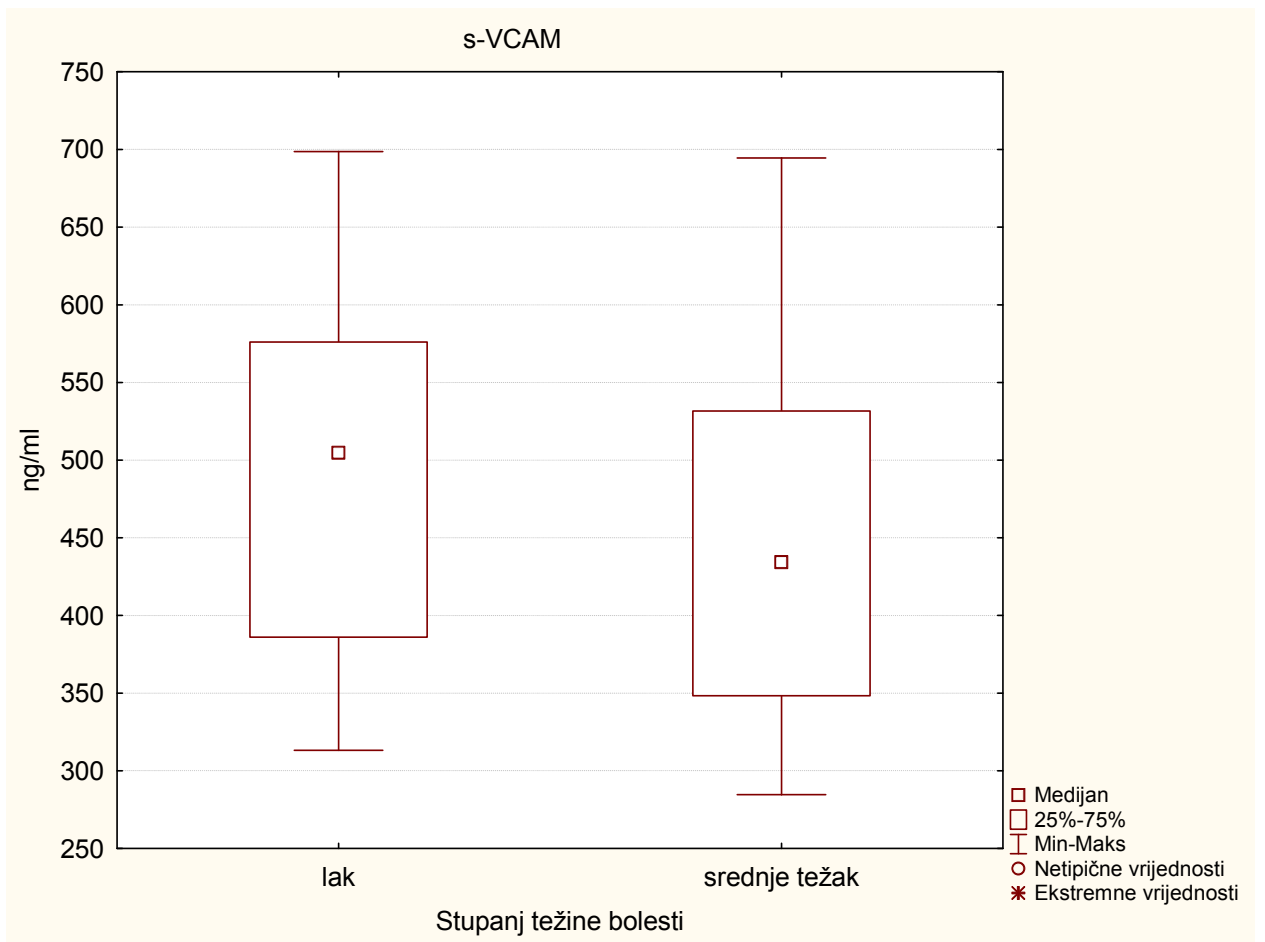
Slika 11. Usporedba vrijednosti koncentracije P-selektina u bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti



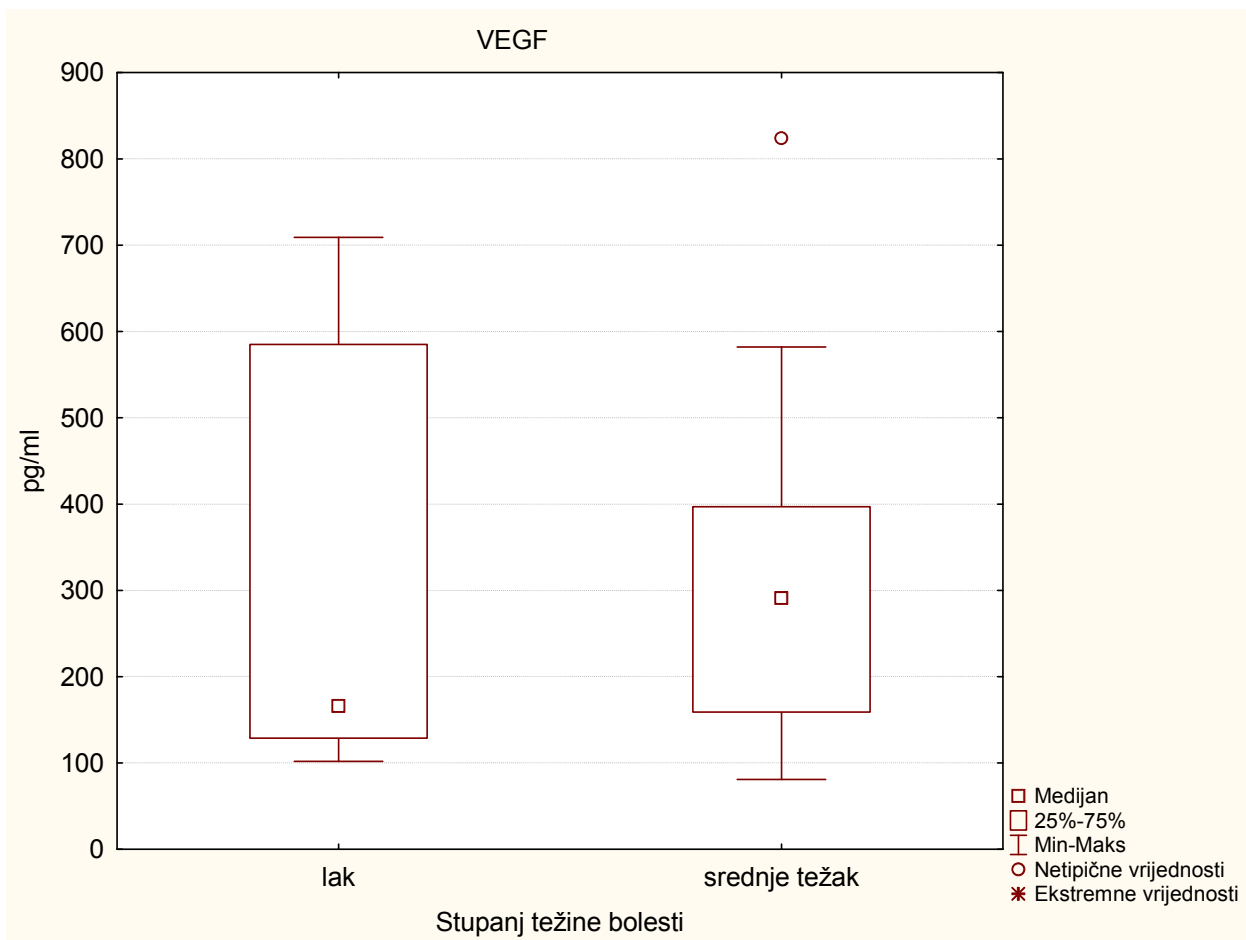
Slika 12. Usporedba vrijednosti koncentracije E-selektina u bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti



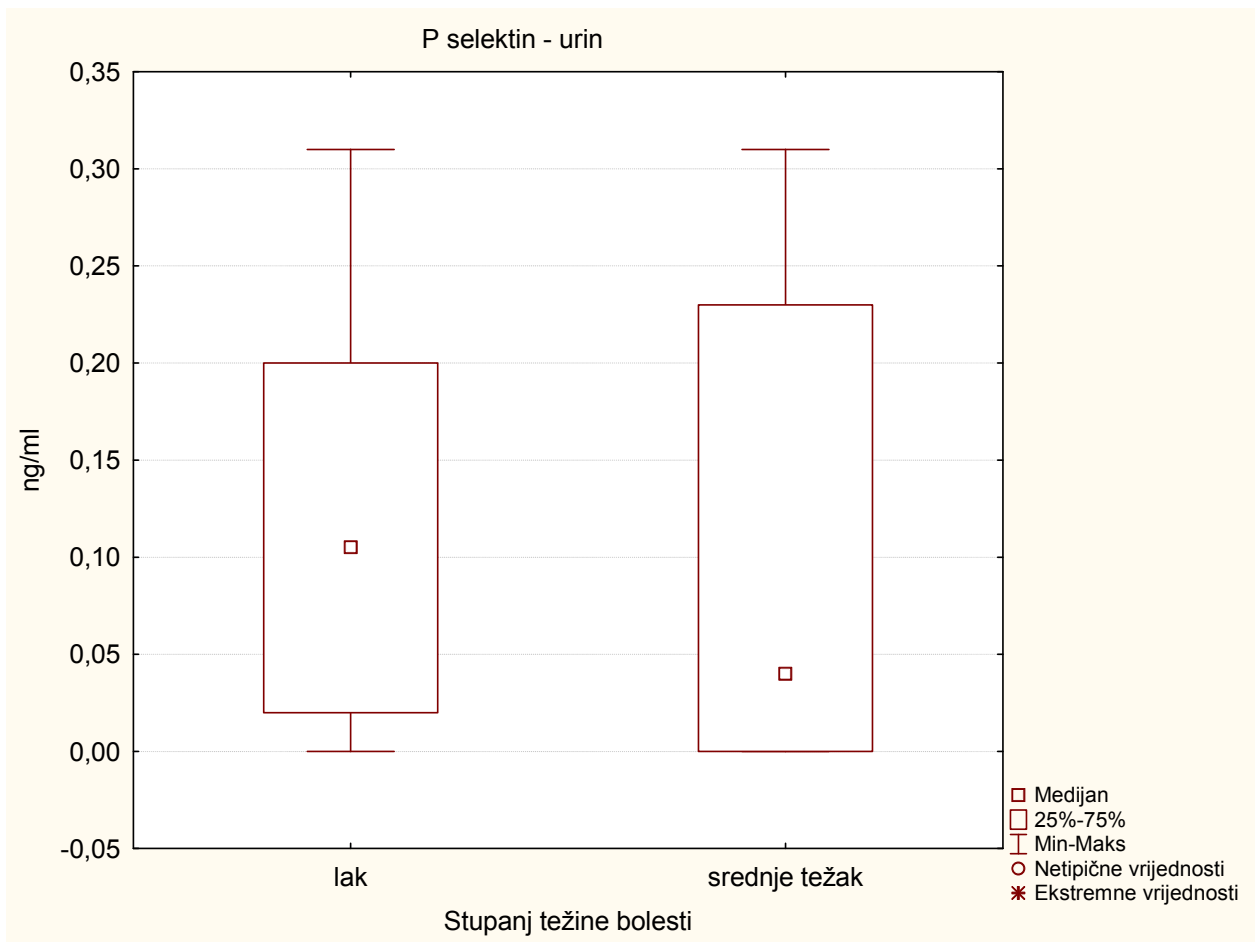
Slika 13. Usporedba vrijednosti sICAM u skupini bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti



Slika 14. Usporedba vrijednosti sVCAM u skupini bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti



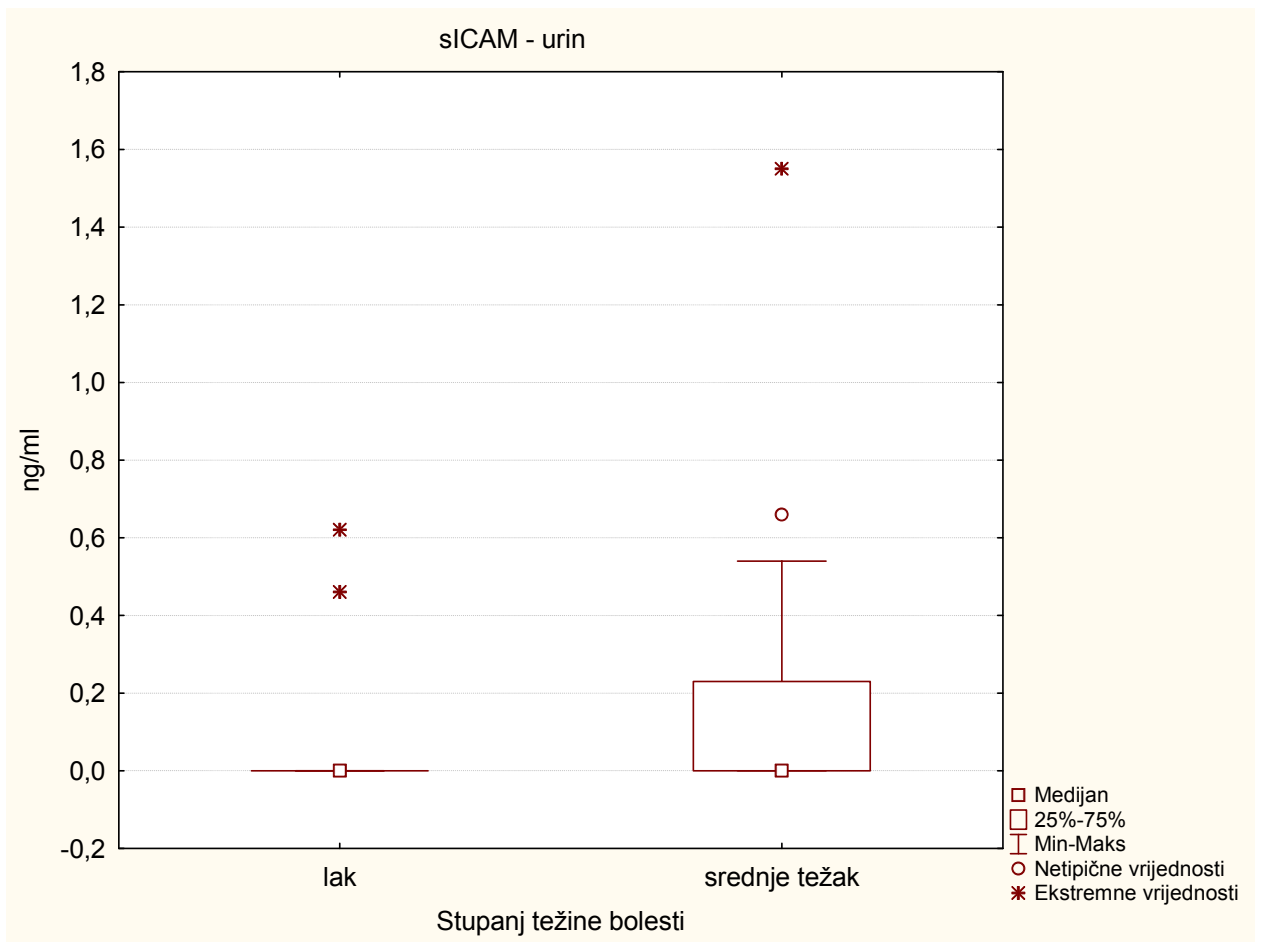
Slika 15. Usporedba vrijednosti sVEGF u skupini bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti



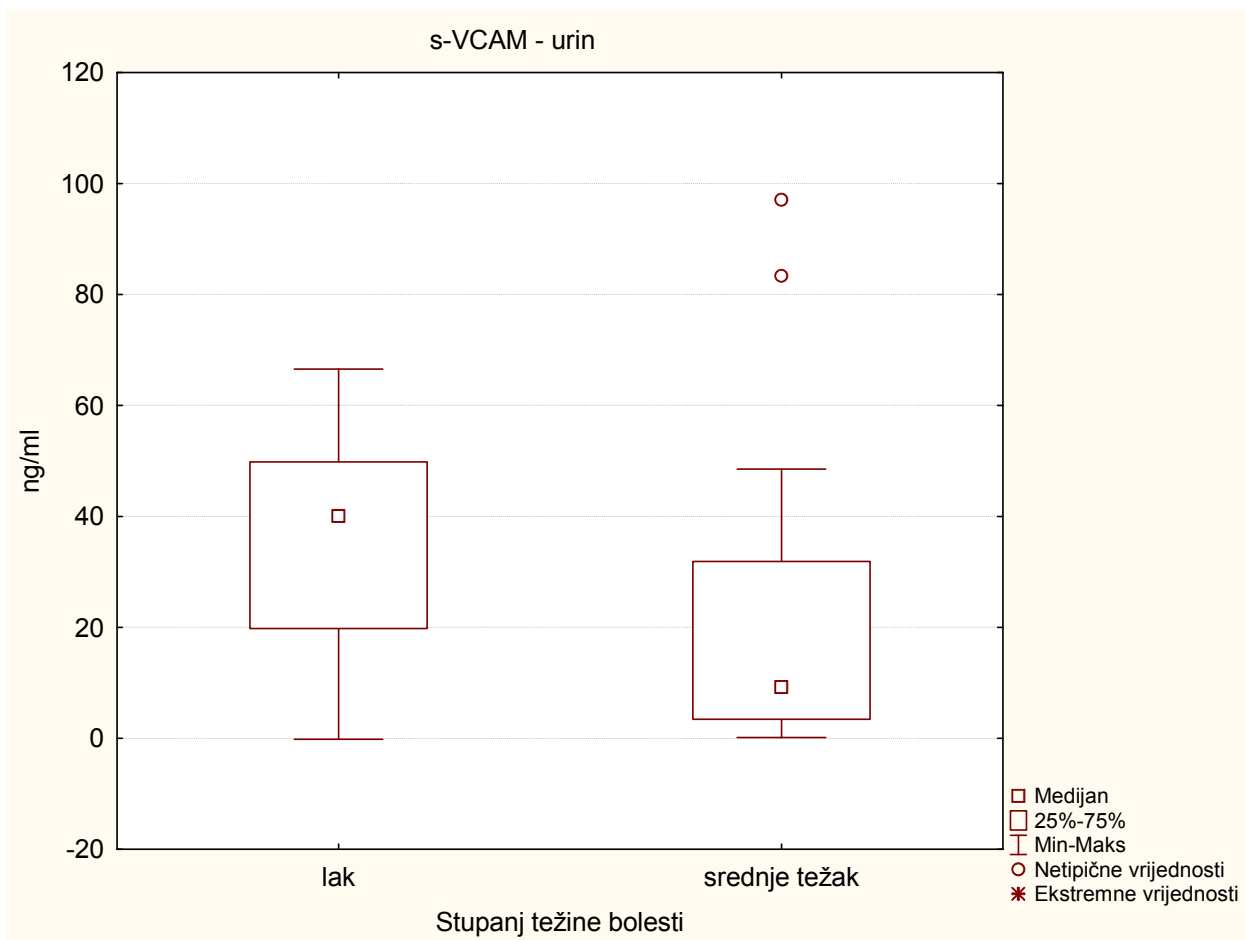
Slika 16. Usporedba vrijednosti P-selektina u urinu u skupini bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti



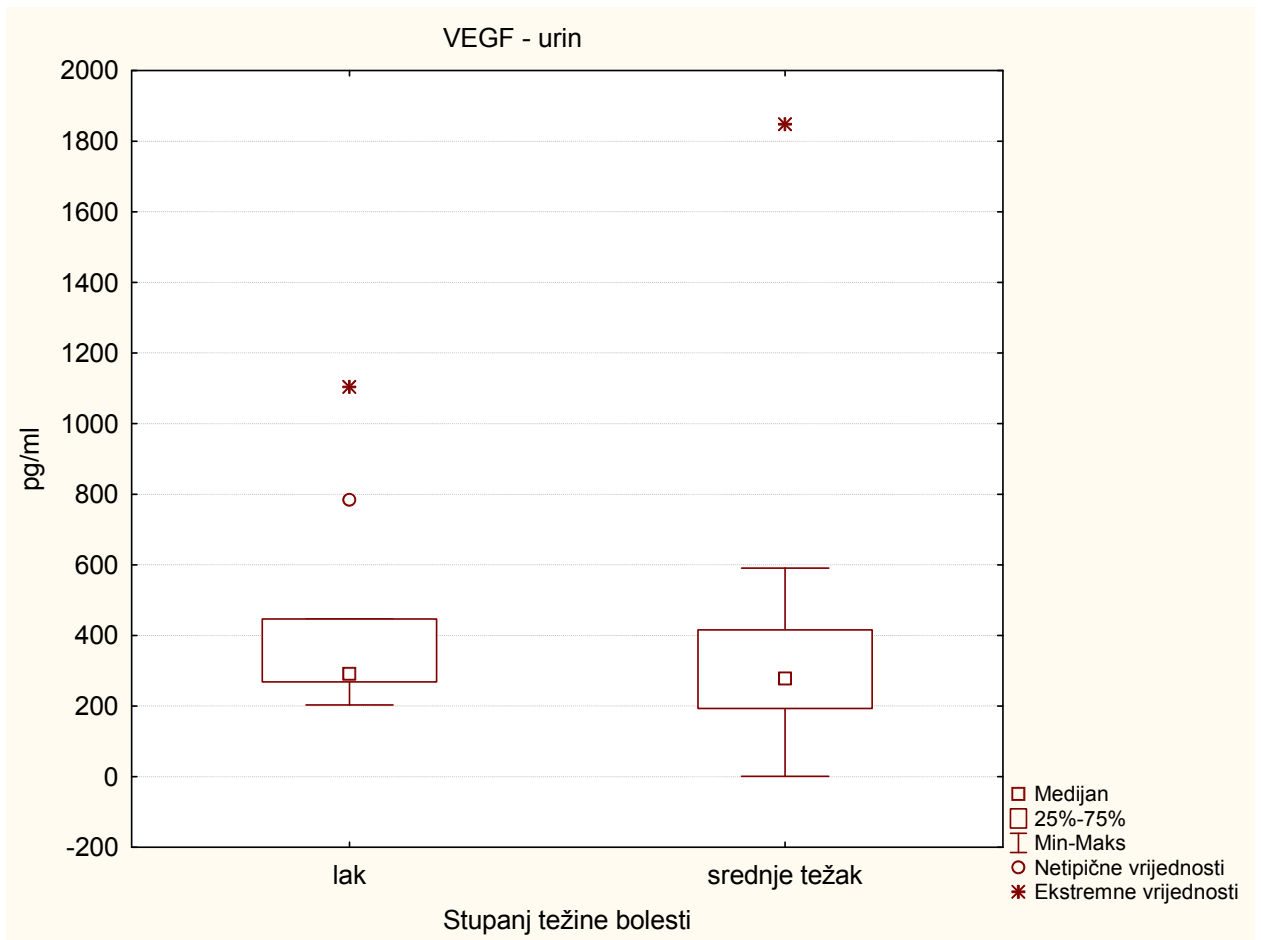




Slika 18. Usporedba vrijednosti sICAM u urinu u skupini bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti



Slika 19. Usporedba vrijednosti sVCAM u urinu u skupini bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti



Slika 20. Usporedba vrijednosti sVEGF u urinu u skupini bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti

## 6. RASPRAVA

U akutnoj fazi hemoragijske vrućice s bubrežnim sindromom nastaju oštećenja mikrocirkulacije te posljedično oštećenje epitelnih stanica tubularnog aparata, što naknadno može dovesti do tubularne disfunkcije (65,105). Oštećenje tubularnog aparata bubrega pokazuje se u našem istraživanju povećanjem vrijednosti  $\beta 2$  mikroglobulina u urinu, sniženjem vrijednosti osmolalnosti urina, te povišenjem vrijednosti uričke kiseline u serumu.

Međutim, oštećenje endotela u akutnoj fazi HVBS-a vjerojatno može u jednog broja bolesnika pokrenuti i kronične promjene u mikrocirkulaciji, dovodeći tako do razvoja hipertenzije s daljnjim oštećivanjem sitnih krvnih žila glomerula i razvojem mikroalbuminurije. Dakle, promjene na bubrezima nastaju u akutnoj fazi bolesti, te se vremenom mogu razviti kronične sekvele.

Danas se smatra da su nakon preboljelog HVBS-a sasvim sigurno prisutne kronične promjene na bubrezima. Još nije sasvim rasvijetljena dinamika promjena, način njihova nastajanja, niti je utvrđeno koje dijelove nefrona najviše zahvaćaju. Također, tek treba istražiti koji serotipovi hantavirusa najčešće izazivaju kronične promjene na bubrezima i koji među njima izazvaju najintenzivnije patološko-funkcionalne promjene tih organa. Prve zabilješke o kroničnim promjenama na bubrezima uočene su praćenjem vojnika koji su preboljeli HVBS u Korejskom ratu 1951.-52. godine (89). Slijedom navedenog rada nastala su istraživanja o kroničnim posljedicama nakon preboljelog HVBS-a. Prve hospitalizacije veterana Korejskog rata nakon preboljenog akutnog HVBS-a bile su uglavnom zbog proteinurije, bolova u leđima, te zbog učestalih urinarnih infekcija. Kliničkim pregledom utvrđena je arterijska hipertenzija, a laboratorijski je nađena proteinurija. Bolesnici koji su preboljeli HVBS bili su češće hospitalizirani zbog urinarnih infekcija, a četiri puta češće su bili hospitalizirani oni bolesnici čija je akutna bolest bila izrazito teška (89). Svjetska zdravstvena organizacija je

1983. godine preporučila uvrstiti u istraživanje o HVBS-u i obradu kroničnih promjena nakon preboljele akutne faze bolesti.

Prije šest godina u Washingtonu su epidemiološki obrađivani veterani Korejskog rata i uspoređivana je stopa morbiditeta i mortaliteta u skupini vojnika koji su preboljeli i skupina vojnika koji u tom ratu nisu preboljeli HVBS. Veterani s preboljelom HVBS-om češće su pobolijevali od infektivnih i drugih bolesti od kontrole (33,2% naprema 32,0%), ali razlika nije bila statistički značajna. Bolesnici koji nisu bijele rase imali su značajno veću stopu pobola od ispitanika iz kontrolne skupine, a također su češće imali cerebrovaskularni inzult (4,8% prema 0%) i dijabetes melitus (19,3% naprema 8,1%) (139).

Glavobolja i bolovi u leđima, koji su inače povod kontrolnim pregledima, čini se da s vremenom gube na intenzitetu. U našem istraživanju 1998. godine gotovo 96% bolesnika navodilo je bolove u leđima, a 14 godina nakon preboljelog HVBS-a bolove u leđima navodilo je 36,5% ispitanika. U istraživanjima u Rusiji 18,8 % bolesnika imalo je bolove u lumbalnoj regiji i pastoznost lica (90). Drugi istraživači su od subjektivnih tegoba nakon preboljelog HVBS-a našli glavobolju u 78,2% i križobolju u 70,6 % bolesnika (140). Glavobolja je u ovom istraživanju zabilježena u 50 % ispitanika u skupini bolesnika.

U našem istraživanju 1998. godine zabilježili smo povišene vrijednosti krvnog tlaka u 30% ispitanika, a također i 2009. godine (94). Godine 2009. zabilježene su statistički značajno više vrijednosti krvnog tlaka u skupini bolesnika nego u kontrolnoj skupini (tablica 4). Ove povišene vrijednosti krvnog tlaka osobito su značajan nalaz kada se zna da je prosječna životna dob bolesnika 39,5 godina i da je prije stupanja u Hrvatsku vojsku svim bolesnicima obavljen sistematski pregled i da su svi bili sasvim zdravi (94).

Nalaz arterijske hipertenzije u naših bolesnika u skladu je i s nalazima Glassa i suradnika koji su istraživanjem u Marylandu (SAD) pronašli da 80% ispitanika seropozitivnih na hantaviruse ima kroničnu bubrežnu bolest, dok je u kontrolnoj skupini ispitanika koji

nemaju protutijela na hantaviruse kroničnu bubrežnu bolest imalo 44% ispitanika. Hipertenzivnu bubrežnu bolest imalo je 70% ispitanika iz prve skupine i 9% ispitanika iz kontrolne skupine (141). Opažanja o povišenim vrijednostima srednjeg arterijskog tlaka i bubrežnog oštećenja nakon preboljelog HVBS-a zabilježena su također i u Italiji i Francuskoj (142, 143). Prva istraživanja u Skandinaviji nisu ukazivala na povezanost kroničnog bubrežnog oštećenja i hipertenzije nakon preboljelog HVBS-a. Izostanak bubrežnih promjena nakon preboljele HVBS tada je objašnjavano mogućom manjom patogenošću virusa Puumala (70). U istraživanjima u Srbiji dvije godine nakon preboljelog HVBS-a oštećenu bubrežnu funkciju imalo je 18% bolesnika, hipertenziju 9%, a kroničnu bubrežnu insuficijenciju 9% bolesnika (144). Studija Glassa i suradnika pokazala je da bolesnici s pozitivnim protutijelima na hantavirus i s prisutnom proteinurijom >150 mg/dan imaju oko šesnaest puta veću mogućnost za razvoj hipertenzije. Dva glavna nalaza Glassove studije su: bolesnici koji su preboljeli HVBS statistički značajno češće imaju proteinuriju od 250 mg u 24-satnom urinu i hipertenziju (dijastolički tlak > 90 mmHg) nego ispitanici iz kontrolne skupine (141).

Akutno oštećenje endotela prepoznato je kao osnovno patološko zbivanje u HVBS-u (65). Ova činjenica podupire hipotezu da endotelna disfunkcija pridonosi permanentnom tubularnom i vaskularnom oštećenju, a to pak razvoju hipertenzivne bolesti bubrega. U radu Sirotina, koji je pratio kronične posljedice u 92 bolesnika nakon preboljelog HVBS-a, trajna hipertenzija zabilježena je u 18,5% bolesnika (140). U novijem istraživanju skandinavskih autora šest godina nakon akutne HVBS-om uočene su značajno više vrijednosti sistoličkog krvnog tlaka u osoba koje su preboljele HVBS nego u kontrolnoj skupini (sistolički krvni tlak  $123 \pm 11$  prema  $117 \pm 9$  mmHg,  $p > 0,012$ ) (99).

U dosadašnjim istraživanjima posljedica nakon preboljelog HVBS-a nije pridavano posebno značenje vrijednostima hematoloških nalaza. Mi smo zabilježili značajno više vrijednosti sedimentacije eritrocita u osoba koje su preboljele HVBS ( $6,0$  mm/h prema  $4,0$

mm/h,  $p=0,025$ ) u odnosu na ispitanike iz kontrolne skupine, iako su vrijednosti sedimentacije u obje skupine u granicama normale. Osobe koje su preboljele HVBS imaju više vrijednosti Von Willebrandova faktora. U bolesnika sa smanjenom stopom glomerularne filtracije rastu vrijednosti Von Willebrandova faktora (124, 125). I u našem istraživanju više vrijednosti Von Willebrandova faktora, kao markera endotelne disfunkcije, zabilježene su u skupini bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 1,2 prema 1,0 ;  $p=0,008$ ).

U radovima o povezanosti oštećenja bubrežne funkcije i povećanja kardiovaskularnog rizika promatrana je i vrijednost D-dimera. Utvrđeno je da su bili povišeni u osoba sa smanjenom stopom glomerularne filtracije (130). U našem istraživanju nije bilo uočljive razlike u vrijednostima D-dimera između osoba s preboljelim HVBS-om i zdravih kontrola. U usporedbi s radovima Stama i Wannametheea (129,130) naš rezultat je očekivan obzirom na mala oštećenja bubrežne funkcije i dob ispitanika. Mortalitet od kardiovaskularnih bolesti povećava se sa smanjenjem stope glomerularne filtracije koje je prisutno kod svih osoba s kroničnom bubrežnom bolešću (129).

Od biokemijskih nalaza u našem istraživanju najviše su nas zanimale vrijednosti dušičnih spojeva u krvi, aminotransferaza i CRP-a. Tako su u našem istraživanju 1998. godine četiri bolesnika imala povišene vrijednosti aminotransferaza uz negativne biljege virusnog hepatitisa, a do 2009. godine došlo je do normalizacije i nisu nađene značajne razlike u koncentraciji aminotransferaza između bolesnika i kontrolne skupine (94).

U ovom istraživanju vrijednosti CRP-a bile su statistički značajno više u bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 2,5 mg/L prema 1,2 mg/L,  $p=0,005$ ), iako su vrijednosti u obje skupine unutar normalnih granica. U nekim istraživanjima naglašava se da upala potiče vaskularne bolesti, a nivo CRP-a je povišen (136). Pokazalo se da vrijednosti CRP-a u serumu mogu biti povezane sa smrtnim ishodom od vaskularnih bolesti kod ljudi na dijalizi. Nađeno

je da ovaj protein, što ga proizvodi jetra, nije samo upalni marker već može biti i medijator vaskularnih bolesti (135).

Dudarev smatra da su glomerularna i tubularna disfunkcija u rekonvalescenciji nakon HVBS-a (intraglomerularna hipertenzija, albuminurija, smanjenje koncentracijske sposobnosti bubrega i oštećenje tubularnog transporta) karakterizirane stalnom renalnom hipoperfuzijom i hipoekskretornom hiperuricemijom. U našem istraživanju vrijednosti urične kiseline bile su značajno veće u bolesnika nego u kontrolnoj skupini (medijan 330,0  $\mu\text{mol/L}$  prema 282,0  $\mu\text{mol/L}$ ,  $p=0,025$ ) (146).

Snižene vrijednosti hormona T4 u bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu ( $p=0,05$ ) u našem ispitivanju zahtijeva daljnje praćenje obzirom na poznata hipofizealna krvarenja u akutnoj fazi HVBS-a (90). Oštećenje sitnih krvnih žila može biti smetnja cirkulaciji i otežavajuća okolnost za funkcioniranje žlijezda s unutarnjim lučenjem. Sve ovo nalaže praćenje endokrinog sustava po preporuci srpskih autora koji su opisali hipopituitarizam nakon preboljelog HVBS-a (95, 151).

Obradom prvog jutarnjeg urina našli smo u jednog bolesnika prisutnost nitrita u urinu, dok u kontrolnoj skupini nije bilo uzorka urina s pozitivnim nalazom nitrita. Prisutnost proteina u urinu zabilježena je kod sedam bolesnika i u dva ispitanika iz kontrolne skupine. U sedimentu urina gdje su bile promatrane vrijednosti broja L i E nije bilo značajne razlike u broju eritrocita između dviju promatranih skupina. Leukociti su bili povišeni u sedam bolesnika i u tri osobe iz kontrolne skupine. U našem radu 20% bolesnika imalo je leukocituriju, što se podudara s nalazima Sirotina koji je leukocituriju zabilježio u 30,4% bolesnika (140). Četiri su bolesnika u našem istraživanju imala bakteriuriju (13%), što je značajno manje nego u radu Sirotina, gdje je 43,5% bolesnika imalo bakteriuriju (106).

Slijedom radova ruskih autora, koji opisuju pad koncentracijske sposobnosti bubrega i smanjenje reapsorpcije Na, učinjena je i osmolalnost prvoga jutarnjeg urina. Ona je u naših



ispitanika bila 805,63 mosm/L, a u istraživanju ruskih autora 724,3 mosm/L, dok je srednja vrijednost u naših kontrola 899,6 mosm/L, a u ruskih kontrola 980,7 mosm/L (146). Uočljiva je razlika smanjenja koncentracijske sposobnosti urina u osoba koje su preboljele HVBS u usporedbi s ispitanicima iz kontrolne skupine.

Praćenjem svojih ispitanika Sirotin je zaključio da su simptomi kroničnog tubulointersticijskog nefritisa najizraženiji u prve tri godine nakon preboljenja HVBS-a, te da se ponovno intenziviraju nakon deset godina od preboljenja bolesti (146). U naših ispitanika glomerularna filtracija 1998. godine bila je 111,74 ml/s, a 2009. godine 119,41 ml/s, što znači da je došlo do poboljšanja glomerulske filtracije.

Obradom 24-satnog urina nakon trodnevne dijeta s ograničenim unosom soli u hrani (6 grama na dan), za razliku od kontrolne skupine, u skupini bolesnika dobivene su povišene vrijednosti natrija. U mjerenjima 1998. godine povišene vrijednosti natrija u 24-satnom urinu imalo je 10/23 bolesnika (43,4%), a 2009. godine 66,6% bolesnika (94). Ruski autori su smanjenu reapsorpciju natrija našli u 37,5% bolesnika s preboljelim HVBS-om (140).

Prisutnost tubularnog defekta u osoba koje su preboljele HVBS traži proučavanje tubularnog transporta u ovakvih bolesnika. U istraživanju Pervznera i suradnika mjerene su vrijednosti natrija i kalija, ali i drugih elektrolita, nakon opterećenja vodom. Vrijednosti kalija nisu se bitno razlikovale između rekonvalescenata od HVBS-a i ispitanika iz kontrolne skupine, osim u prvim mjesecima nakon preboljele bolesti kada je kaliurija bila izraženija u osoba koje su preboljele HVBS (93). U našem radu vrijednosti fosfora, magnezija i kalcija nisu se razlikovale značajnije u 24-satnom urinu bolesnika i ispitanika iz kontrolne skupine.

Trokratnim mjerenjem proteinurije u bolesnika i ispitanika iz kontrolne skupine mi smo zabilježili statistički značajno višu koncentraciju proteina u 24-satnom urinu u prvom i trećem mjerenju u bolesnika nego u kontrolnoj skupini (tablica 7a). Značajno veća proteinurija u 24-satnom urinu u rekonvalescenata od HVBS-a nego u kontrolnoj skupini

zabilježena je i u ispitavanju finskih autora, kao i u istraživanjima iz SAD-a i Rusije (89-90,92-94).

Povišenje mikroalbumina u 24h urinu zabilježeno je u našem praćenju u sva tri mjerenja u skupini bolesnika, a nijednom u kontrolnoj skupini. Finski i ruski autori u svojim istraživanjima nisu mjerili vrijednosti mikroalbumina u urinu, već su mjerili ukupne proteine. Ovo je prvo istraživanje mikroalbuminurije u 24-satnom urinu u osoba koje su preboljele HVBS. Značajno ispitivanje mikroalbuminurije rađeno je u osoba kod kojih je promatrano oštećenje endotelne disfunkcije u vezi s kroničnim vaskularnim bolestima ili dijabetesom. U tim istraživanjima mikroalbuminurija korelira sa stupnjem bubrežnog oštećenja i razmjerom dijabetičke vaskulopatije (85).

U našem radu povišene vrijednosti  $\beta 2$  mikroglobulinurije zabilježene su u dva mjerenja u bolesnika, za razliku od ispitanika iz kontrolne skupine (tablica 7a), što pokazuje da ovaj enzim koji se izlučuje iz epitelnih stanica tubula može biti značajno povišen i nakon preboljelog HVBS-a. U našem istraživanju 1998. godine razina  $\beta 2$  mikroglobulina u 24-satnom urinu bila je povišena u 6% bolesnika (60). Vrijednosti kreatinin klirensa bile su približno iste i kod bolesnika i u kontrolnoj skupini, što dokazuje da razmjer bubrežnog oštećenja ipak nije jačeg stupnja. Vrijednosti bjelančevina u 24-satnom urinu značajno su veće u vojnika koji su preboljeli HVBS. Statistički značajna razlika u vrijednostima proteina i mikroalbumina u ispitanika i kontrolne skupine, te manja razlika u koncentraciji  $\beta 2$  mikroglobulina postavlja važno pitanje porijekla proteinurije. Naime upitno je gdje se glavne kronične promjene, na glomerularnim kapilarama ili na tubularnom aparatu. U radu finskih autora statistički je značajnija razlika u vrijednosti  $\alpha 1$  mikroglobulina u osoba koje su preboljele HVBS u odnosu na kontrolnu skupinu (100). U našim prijašnjim istraživanjima iz 1998. godine čak je 26% bolesnika imalo povišene vrijednosti  $\beta 2$  mikroglobulina, a u sadašnjemu 16,6% bolesnika (94).

Kao što je već rečeno, samo su dva bolesnika bila inficirana virusom Dobrava, dok ih je 27 bilo inficirano virusom Puumala. Ruski autori su ustvrdili da su kronične promjene na bubrezima i hipertenzija izraženije u osoba koje su bile inficirane virusom Dobrava (59,106,107). Vjerojatno bismo i mi zabilježili da su kronične promjene na bubrezima bile izraženije u naših bolesnika s prethodnom infekcijom virusom Dobrava da je praćenje bilo moguće na brojnijoj skupini ispitanika. Praćenjem naših bolesnika u proteklih 14 godina nije zabilježeno značajnije pojavljivanje urinarnih infekcija. Većina je bolesnika dolazila na kontrolne preglede potaknuta subjektivnim tegobama kao što su bolovi u leđima, glavobolja ili pak zbog tegoba prouzročenih hipertenzijom.

Oftalmološkim pregledom pronađene su statistički značajne razlike na sitnim krvnim žilama retine u bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu. U dostupnoj literaturi nismo našli studije o promjenama na očnoj pozadini u osoba koje su preboljele HVBS, već su samo opisane promjene u akutnoj fazi bolesti. U toj fazi promjene su uočljive na arteriolama, kapilarama i venulama, te u početku dolazi do otoka epitelnih stanica, a potom do tromboze unutar lumena i nekroze epitelnih stanica. Ove promjene nisu prisutne samo na očima već i u bubregu, hipofizi i u nadbubrežnoj žlijezdi. Sve one vode k trombozi sitnih krvnih žila, a promjene u stadiju rekonvalescencije postupno involviraju (146).

Ultrazvuk bubrega bio je patološki (nejasna kortikomedularna granica) u 17/30 ispitanika iz skupine bolesnika, dok je u kontrolnoj skupini bio patološki u 8/30 ispitanika. Naši nalazi uglavnom se podudaraju s nalazima u istraživanju Sirotina i suradnika koji je pronašao da 14/21 ispitanika ima patološki nalaz ultrazvuka bubrega (140). Sirotin navodi sljedeće ultrazvučne promjene: pojačan eho parenhima bubrega, nepostojanje jasnih granica između parenhimnog i kanalnog sustava i dilatacija kanalnog sustava (97,140).

EKG promjene u akutnoj fazi HVBS-a su blage i odnose se uglavnom na smetnje u provodljivosti, te se smatra da su one reverzibilne (147). Naša studija pokazala je, međutim,

značajnu učestalost EKG promjena u osoba koje su preboljele hemoragijsku vrućicu s bubrežnim sindromom.

Mjerenjem imunoloških parametara endotelne disfunkcije ustvrdili smo više vrijednosti P i E-selektina, sICAM i VEGF u serumu, te više vrijednosti sVCAM i VEGF u urinu, a sve to u skupini bolesnika, za razliku od ispitanika iz kontrolne skupine. Kao što smo prethodno istaknuli, vrijednosti CRP-a i Von Willebrandova faktora u skupini bolesnika također su bile značajno povišene u odnosu na kontrolnu skupinu.

Povišenje vrijednosti ovih pokazatelja inflamatorne aktivnosti i posljedične endotelne disfunkcije nađene su u osoba s oštećenom bubrežnom funkcijom, a što je bilo povezano s većom stopom smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti (129). Također je pokazano da oštećenje bubrežne funkcije nerijetko može dovesti do povišenja markera upalne i endotelne disfunkcije (148). U prijašnjim studijama zaključeno je da su povišene vrijednosti Von Willebrandova faktora, sVCAM-a i mikroalbuminurije povezane s povećanim rizikom smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti i sa sveukupnim rizikom smrtnosti (149).

Jednom izazvano oštećenje na endotelnim stanicama uzrokovano infekcijom hantavirusima vjerojatno podržava ubrzani aterogenetski proces. Blago povišene vrijednosti CRP-a i fibrinogena u skupini bolesnika ukazuju na postojanje stalnog, iako blagog, inflamatornog odgovora. Povišene vrijednosti ICAM-a također ukazuju na postojanje blage inflamacije (65). Sve ove činjenice vode prema zaključku da jednom preboljeli HVBS ostavlja veću predispoziciju za stjecanje arterijske hipertenzije i bubrežnih bolesti. Iako ovi pokazatelji 14 godina nakon preboljelog HVBS-a većinom nisu imali statističku značajnost, mogli bi upozoravati na kroničnu endotelnu disfunkciju kao uvod u bubrežna oštećenja. Osobito bi trebalo dodatno provjeriti značenje povišenja sVCAM u urinu (4x viši u bolesnika nego u kontrola) kao mogućeg prediktivnog parametra razvoja kroničnih bubrežnih oštećenja.

U istraživanju Jacobsona i suradnika pronađena je snažna korelacija stupnja bubrežnog oštećenja i koncentracije Von Willebrandova faktora, sICAM, sVCAM i trombomodulina. Ova povezanost može imati i ulogu u nastanku kardiovaskularnih bolesti (115).

U bolesnika s razvijenom bubrežnom bolešću i arterijskom hipertenzijom primjenom inhibitora angiotenzin konvertaze, blokatora receptora za angiotenzin II. i blokatora kalcijevih kanala snižava se nivo sVCAM i sICAM (119). Praćenjem jednog našeg bolesnika, koji je prebolio HVBS, razvio IgA nefropatiju i hipertenziju, primjena blokatora angiotenzin konvertaze smanjila je proteinuriju, te vrijednosti sVCAM i sICAM, vjerojatno, dovela u normalne okvire. Još je 2001. godine Mustonen utvrdio razvoj mezangiokapilarnog glomerulonefritisa u bolesnika koji je bio inficiran virusom Puumala (92). Mustonen je u radu iz 1991. od 86 bolesnika koji su bolovali od EN, u jednog zabilježio IgA nefropatiju, kao što je zabilježeno kod našeg bolesnika (63).

Vaccaro i suradnici mjerili su vrijednosti CRP-a, sVCAM i sICAM u zdravih kontrola, bolesnika s transplantiranim bubregom, bolesnika s kroničnom bubrežnom bolešću i onih na hemodijalizi. Vrijednosti koreliraju značajno (više su u onih s većim bubrežnim oštećenjem), a osobito se to odnosi na sVCAM, pa se smatra da bubrezi sudjeluju i u njegovu katabolizmu (114). U akutnom stadiju HVBS-a razina markera endotelne disfunkcije raste ovisno o stupnju oštećenja bubrega (1). Slijedom razmišljanja o kroničnim promjenama na bubrezima nakon preboljelog HVBS-a i razvoja povišenog krvnog tlaka određivali smo P i E-selektin, koji također imaju ulogu u endotelnoj disfunkciji i u ulozi u aterotrombozi. P-selektin je važan u agregaciji trombocita za endotelne stanice, dok E-selektin potpomaže adheziju neutrofila na citokinima aktivirani endotel (122, 150). U serumima naših bolesnika zabilježili smo više vrijednosti medijana za ove parametre nego u kontrola, iako nije bilo statistički značajnije razlike (P-selektin medijan 101,4 ng/ml prema 84,0 ng/ml; E-selektin 50,3 ng/ml prema 46,3 ng/ml).

Vrijednosti VEGF-a u serumu bolesnika više su nego u kontrolnoj skupini (278,5 pg/ml prema 236,0 pg/ml), kao i srednje vrijednosti VEGF-a u urinu koje su također više u bolesnika nego u kontrola (276,1 pg/ml prema 242,2 pg/ml). Lokalizacija VEGF-a blizu filtracijske barijere kontrolira glomerularnu filtraciju u normalnim bubrezima i inducira proteinuriju u bubrežnim bolestima. Mezangiokapilarni glomerulonefritis diže razinu VEGF-a, dok sklerozirajuća nefroskleroza ne podiže nivo VEGF-a (128). Blago povišene vrijednosti VEGF-a u našem istraživanju mogu se objašnjavati patološkim nalazom u tijeku kroničnog nefritisa. Davanje VEGF-a miševima nakon reduciranja glomerula povećava glomerularnu i peritubularnu proliferaciju endotelnih stanica i reducira intersticijsku fibrozu.

Budući da nisu svi parametri endotelne disfunkcije ispitivani u akutnoj fazi HVBS-a, osobito ne njihove koncentracije u urinu, bilo bi zanimljivo odrediti ove markere u bolesnika s akutnim HVBS-om, te prospektivno pratiti njihove koncentracije i eventualni razvoj kroničkih sekvela, što u ovoj studiji nije bilo moguće ni retrogradno jer nisu bili sačuvani serumski iz akutne faze bolesti. Također bi bilo zanimljivo usporediti koncentracije između bolesnika s infekcijom virusima Puumala i Dobrava.

U našoj studiji također željeli smo vidjeti povezanost markera endotelne disfunkcije i drugih laboratorijskih i kliničkih parametara. Iako korelacija nije visoka, ipak smo u nekoliko parametara našli određenu značajnu povezanost. Tako nalaz proteinurije u 24-satnom urinu korelira s vrijednostima CRP-a, E-selektina u serumu te Na u 24-satnom urinu. Uočava se povezanost markera endotelne i inflamatorne disfunkcije s mikroalbuminurijom i proteinurijom u 24 satnom urinu. Dakle, mikroalbuminurija i  $\beta$ 2mikroglobulinurija koreliraju s markerima endotelne disfunkcije, što se objašnjava oštećenjem endotelnih stanica a između ostalog u tubulima bubrega. Obzirom na težinu bolesti u akutnoj fazi dane 1995. godine, sve naše bolesnike smo također podijelili u tri skupine: na one s izrazito teškim tijekom bolesti (2 bolesnika), srednje teškim tijekom bolesti (17 bolesnika) i one s lakim tijekom bolesti (11

bolesnika). Iz statističke analize izdvojena su dva bolesnika s izrazito teškim tijekom bolesti, te su analizirani oni sa srednje teškim i lakim tijekom bolesti. Statistički značajno su se razlikovale sljedeće varijable između bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti: Na u 24 satnom urinu,  $\beta$ 2 mikroglobulin u 24-satnom urinu, dok su granične vrijednosti značajnosti za proteine u 24h urinu ( $p=0,095$ ) i za mikroalbumine u 24-satnom urinu ( $p=0,060$ ). Naši nalazi podudaraju se s nalazima finskih i ruskih autora koji ukazuju da teži akutni tijek ostavlja veće posljedice na bubrezima (100, 140). Razlike bi sigurno bile veće i značajnije da je bilo više bolesnika s teškim oblikom bolesti. Zasebno su u (tablici 9) prikazane vrijednosti praćenja u dvojice bolesnika koji su bili inficirani virusom Dobrava. Usporedbom laboratorijskih nalaza u ovih dvaju bolesnika, kod kojih je dakle bolest bila izazvana Dobrava virusom, može se reći da su imali niže vrijednosti trombocita u akutnoj fazi bolesti, a sada, nakon 14 godina, veće su vrijednosti proteina u 24-satnom urinu u odnosu na bolesnike u kojih je bolest bila izazvana virusom Puumala. Ovi nalazi djelomično ukazuju na veću patogenost virusa Dobrava. Usporedba nalaza u tablicama 10, 10a i 10b pokazuje veće vrijednosti uričke kiseline, aspartat aminotransferaze, alanin aminotransferaze i gama glutamil transferaze u 2009. godini u odnosu na 1998. godinu. Uspoređivanjem bolesnika s lakim i srednje teškim tijekom bolesti tek u jednom mjerenju nalazimo povišene vrijednosti krvnog tlaka u sjedećem položaju, te u jednome mjerenju u ležećem položaju. Kod bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti nalazimo povišene vrijednosti imunoglobulina A, a također i povišene vrijednosti mikroalbumina u 24-satnom urinu i CRP-a. Dakle, iako nije statistički značajno, više su vrijednosti nekih parametara upalne i endotelne disfunkcije u bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti u odnosu na one s lakim tijekom bolesti.

Konačno, kronične promjene u naših bolesnika iziskuju daljnje kliničko praćenje, opetovane preglede s kontrolama krvnog tlaka i obradom 24-satnog urina barem jednom godišnje a

jednom u petogodišnjem razdoblju bilo bi uputno uraditi ultrazvuk i scintigrafiju bubrega te odrediti vrijednosti markera endotelne disfunkcije.



## 7. LITERATURA

1. Muranyi W, Bahr U, Zeier M, van der Woude J. Hantavirus infection. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3669-79.
2. Aleksandrowicz P, Wolf K, Folzoroano D, Feldman H, Seebach J, Schnittler H. Viral haemorrhagic fever and vascular alterations. *Hämostaseologie* 2008;28:77-84.
3. Clement J, Heyman P, McKena, Colson P, Avšič-Županc T. The hantaviruses of Europe: from the bedside to the bench. *Emerg Infect Dis* 1997;3:205-211.
4. Borčić B, Turković B, Aleraj B, Tvrtković N. Hemoragijska groznica s bubrežnim sindromom (HGBS) u Hrvatskoj: Učestalost infekcije u ljudi i divlji animalni rezervoari. *Liječ Vjesn* 1999; 113:320-3.
5. Šuvalovoy E.P. Tropičeskie bolezni. Moskva-Med.1979,23-25.
6. Chumakov MP. Studies of viral hemorrhagic fevers. *J Hyg Epid Microb Immun* 1963;7:125-35.
7. Myhrman G. Nephropathia epidemica a new infections disease in North Scandinavia. *Acta Med Scand* 1951;140:52-56.
8. Von Stuhlfauth K. Bricht über ein neuses Schlammeberähnliches Krankheitsbild bei Deutchen Truppen in Lapland. *Dtsch Med Woch* 1943;69:439-443.
9. Chumakov MP, Dubniakova AM, Dzagurov SG, Glazunov SL, Leshckinskaia EV, Povalishina T et al. Hemorrhagic fever with nephritic syndrome in upper Volga basin. *Vopr virusol* 1956;1:26-30.
10. Gajdušek D.C. Virus hemorrhagic fevers. *J Pediatr* 1962;60:841-875.
11. LeDuc JW, Ksiazek TG, Rossi CA, Dalrymple JM. A retrospective analysis of sera collected by the hemorrhagic fever commision during the Korean conflict. *J Infect Dis* 1990; 162: 1182-1184.

12. Lee HW, Lee PW, Johanson KM. Isolation of the etiologic agent of Korean haemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1978;7:298-308.
13. World Health Organization. Haemorrhagic fever with renal syndrome. Memorandum from WHO Meeting. *Bull WHO* 1983;61:269-75.
14. Schmaljohn C, Hjelle B. Hantaviruses. A global disease problem. *Emerg Infect Dis* 1997; 3:95-104.
15. Mc Cormick J.B, Sasso D.R, Palmer E.L, Kiley M.P. Morphological identification of the agent of Korean hemorrhagic fever (Hantaan virus) as a member of the Bunyaviridae. *Lancet* 1982;1:765-27.
16. Schmaljohn CS. Molecular biology of hantaviruses. In: Elliott RM edit. *The Bunyaviridae*, Plenum press, New York 1996. pp 63-90.
17. PHLS Report. HFRS-Hantaan virus infection *Brit Med J* 1985;290:1410-11.
18. Goldsmith CS, Elliott LH, Peters CJ and Zaki SR. Ultrastructural characteristics of Sin Nombre virus, causative agent of hantavirus pulmonary syndrome. *Arch Virol* 1995;140:2107-22.
19. Scharninghausen JJ, Meyer H, Pfeiffer M, Davis D, Honeycutt RL. Genetic evidence of Dobrava virus in *Apodemus agrarius* in Hungary. *Emerg infect dis* 1999;5:468-70.
20. Kariwa H, Lokugamage K, Lokugamage N, Miyamoto H, Yashii K, Nakauchi M, et al. A comparative epidemiological study of hantavirus infection in Japan and Far East Russia. *Jpn J Vet Res* 2007;54:145-61.
21. Ruo SL, LiYT, Tong Z, Ma QR, Liu ZL, Tang YW et al. Retrospective and prospective studies of hemorrhagic fever with renal syndrome in rural China. *J Infect Dis* 1994;170:527-533.
22. Suputthamongkol Y, Nitatpattana N, Chayakullkeeree M, Palabodeewat S, Yoksan S, Gonzalez JP. Hantavirus infection in Thailand: first clinical case report. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2005 May;36(3):700-3.

23. Clement J, Maes P, Muthusetupathi M, Nainan G, Van Ranst M. First evidence of fatal hantavirus nephropathy in India, mimicking leptospirosis. *Nephrol Dial Transplant* 2006;48:843-51.
24. Bi Z, Formenty P, Roth C. Hantavirus infection: a review and global update. *J Infect Developing Countries* 2008;2:3-23.
25. Vapalahti O, Mustonen J, Lundkvist Å, Hentonen H, Plyusnin A, Vaheri A. Hantavirus infections in Europe. *Lancet Infect Dis* 2003; 3:653-61.
26. Hukić M, Kurt A, Torstensson S, Lundkvist Å, Wiger D, Niklasson B. Haemorrhagic fever with renal syndrome in northeast Bosnia. *Lancet* 1996;347:56-7.
27. Gligić A, Fruščić M, Obradović M, Stojanović R, Hlača D, Gibs Cj et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Yugoslavia: Antigenic characterisation of Hantaviruses isolated from *apodemus flavicollis* and *chletrionomys glareolus*. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 41:109-15.
28. Plyusnina A, Cvetko-Krajinović L, Margaletić J, Niemimaa J, Nemirov K, Lundkvist Å, et al. Genetic evidence for the presence of two distinct hantaviruses associated with *apodemus* mice in Croatia and analysis of local strains. *J Med Virol* 2010;
29. Avšič-Županc T, Poljak M, Furlan P, Kaps R, Xiao SY, Le Duc J. Isolation of a strain of a Hantaan virus from a fatal case of hemorrhagic fever with renal syndrome in Slovenia. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:393-40
30. Avsic Zupanc T, Toney A, Anderson K, Chu YK and Schmaljohn C. Genetic and antigenic properties of Dobrava virus: a unique member of the Hantavirus genus, family Bunyaviridae. *J Gen Virol* 1995;76:2801-8.
31. Botros BA, Sobh M, Wierzba T, Arthur RR, Mohareb EW, Frenck R, et al. Prevalence of hantavirus antibody in patients with chronic renal disease in Egypt . *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001;98:331-6.

32. Ksiazek TG, Peters CJ, Rolin PE. Identification of a new North American hantavirus that causes acute pulmonary insufficiency. *Am J Trop Med Hyg* 1995;52:117-23.
33. Jonsson CB, Hooper J and Mertz G. Treatment of hantavirus pulmonary syndrome. *J antiviral research* 2008;78:162-9.
34. Wells RM, Young J, Williams RJ, Amstrong L.R. Busico LR, Khan K et al. Hantavirus transmission in the United States. *Emerg Infect Dis* 1997;3:361-5.
35. Van der Groen G. Haemorrhagic fever with renal syndrome: Recent developments. *Ann Soc Belge Med Trop* 1985;65:121-135.
36. Nemirov K, Henttonen H, Vaheri A, Plyusnin A. Phylogenetic evidence for host switching in the evolution of hantaviruses carried by Apodemus mice. *Virus Res* 2002;90:207-15.
37. Heyman P, Vaheri A, Lundkvist A, Avšič-Županc T. Hantavirus infection in Europe: from virus carriers to a major public-health problem. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009;7:205-17.
38. Antoniadis A, Stylianakis A, Papa A, Alexiou-Daniel S, Lampropoulos A, Nichol S et al. Direct genetic detection of Dobrava virus in Greek and Albanian patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis* 1996;174:407-410.
39. Markotic A. Characteristic of Puumala and Dobrava infections in Croatia. *J Med Virol* 2002;66:542-551.
40. Calisher CH, Mills JN, Root JJ, Beaty BJ. Hantaviruses: etiologic agent of rare, but potentially life-threatening zoonotic diseases. *JAVMA* 2003;222:163-66.
41. McCaughey C, Hart C. Hantaviruses. *J Med Microbiol* 2000;49:638-44.
42. Earle DP. Analysis of the sequential physiologic derangements in epidemic hemorrhagic fever. *Am J Med* 1954;16:690-709.
43. Ameuille P. Du rôle de l'infection dans les néphritis de guerre. *Ann Med* 1916;16:690-709.
44. Kitano M. A study of epidemic hemorrhagic fever. *J Manchou Med* 1944;40:191-209.

45. Kuzman I, Markotić A. *Bunyaviridae*. U Begovac J, Božinović D, Lisić M, Baršić B, Schömwald S. Infektologija. Zagreb: Profil 2006. Str. 496-502.
46. Kuzman I, Markotić A, Turčinov D, Beus I. Epidemija hemoragijske vrućice s bubrežnim sindromom u Hrvatskoj 1995. godine. Lječ Vjesn 1997;119:311-15.
47. Pon E, Mckee KT, Diniega BM, Marrell B, Corwin A, Ksiazek T. Outbreak of hemorrhagic fever with renal syndrome among US marines in Korea. Am J Trop Med Hyg 1990;40 612-19.
48. Clement J, Underwood P, Word D, Pilaski J, Le Duc J. Hantavirus outbreak during military manoeuvres in Germany. Lancet 1996;347:336
49. Dixon KE, Nang RN, Kim DH, Hwang YJ, Park JW, Huh JW et al. A hospital based, case-control study of risk factors for hemorrhagic fever with renal syndrome in soldiers of the armed forces of the Republic of Korea. Am J Trop Med Hyg 1996; 54(3): 284-288.
50. Ledina D. Dinara - novo prirodno žarište hemoragijske groznice s bubrežnim sindromom. (Magistarski rad). Zagreb: Medicinski fakultet, 2000.
51. Borčić B, Puntarić D, Turković B, Aleraj B, Tvrtković N. New natural focus of hemorrhagic fever with renal syndrome in Novska, Croatia. Croat Med J 1996;37:115-8.
52. Markotić A. *Oida hoti, ouden oida* about the hantaviruses. Period Biol 1996; 98(2):151-4.
53. Ledina D, Bradarić N, Borčić B, Turković B, Erceg M: Dinara - new natural focus of hemorrhagic fever with renal syndrome in Croatia. Croat Med J 2002; 43:576-80.
54. Markotić A, Le Duc JW, Hlača D, Rabatić S, Šačević A, Dašić G et al. Hantaviruses are a likely threat to NATO forces in Bosnia and Herzegovina and Croatia. Nature Med 1996;2:269-70.
55. Bugert JJ, Welzel TM, Zeier M, Darai G. Hantavirus infection-haemorrhagic fever in the Balkans-potential nephrological hazard in the Kosovo war. Nephrol Dial Transplant 1999;14:1843-44.

56. Mäkelä S, Hurme M, Ala-Houhala I, Mustonen J, Koivisto AM, Partanen J et al. Polymorphism of the cytokine genes in hospitalized patients with puumala hantavirus infection. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1368-73.
57. Li YL, Ruo SL, Tong Z, Ma QR, Liu ZL, Ye KL et al. A serotypic study of hemorrhagic fever with renal syndrome in rural China. *Am J Trop Med Hyg* 1995;52:247-51.
58. Settergen B. Nephropathia epidemica (hemorrhagic fever with renal syndrome) in Scandinavia. *Rev Infect Dis* 1991;13:736-44.
59. Hayasaka D, Maeda K, Ennis FA, Terajima M. Increased permeability of human endothelial cell line EA. induced by hantavirus-specific cytotoxic T lymphocytes. *Virus Res* 2007; 123:120-7.
60. Sundstrom JB, McMullan LK, Spiropoulou CF, Hoper WC, Ansari AA, Peters CJ et al. Hantavirus infection induces the expression of RANTES and IP-10 without causing increased permeability in human lung microvascular endothelial cells. *J Virol* 2001;75:6070-85.
61. Khaiboullina SF, Jeor SC. Hantavirus Immunology. *Viral Immunology* 2002;15:609-25.
62. Suhnggwon K, Eung TK, Yoon GK, Jin SH, Jung SL, Yong ILK, Hall WC et al. Localization of Hantaan viral envelope glycoproteins by monoclonal antibodies in renal tissues from patients with Korean hemorrhagic fever. *Am J Clin Pathol* 1993;100:398-400.
63. Moroi M, Rothman AL, Kurane I, Montoya JM, Nolte KB, Norman JE et al. High levels of cytokine-producing cells in the lung tissues of patients with fatal hantavirus pulmonary syndrome. *J Infect Dis* 1999;179; 295-302.
64. Geimonen E, Neff S, Raymond T, Kocer SS, Gavrillovskaya IN, Mackow ER. Pathogenic and nonpathogenic hantaviruses differentially regulate endothelial cell response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 15:13837-42.
65. Cosgriff TM. Mechanisms of disease in hantavirus infection: pathophysiology of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Rev Infect Dis* 1991;13:97-107.

66. Tsai TF, Baner SP, Sasso DR. Serological and virological evidence of a Hantaan virus-related enzootic in the United State. *J Infect Dis* 1985;152:126-36.
67. Luo BQ, Gong GX, Zong RS, Zhou Y. Clinical analysis of fifty patients with disseminated intravascular coagulation in epidemic hemorrhagic fever. *Chin J Intern Med* 1979;18:286-88.
68. Zhang XK, Andrassy K, Zoller L, Ritz E. Hantavirus infection presenting as acute renal failure. *Lancet* 1990;336:1441-42.
69. Lee JS. Clinical manifestations and treatment of HFRS and HPS. U: Lee HW, Calisher C, Schmaljohn C ed. *Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome*. Seoul: WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research (Hantaviruses) Asan Institute for life science, Korea University, 1998: 17-33.
70. Settergen B, Trollfors B, Fasth A Hultberg B, Norrby SR. Glomerular filtration rate and tubular involvement during acute disease and convalescence in patients with nephropathia epidemica. *J Infect Dis* 1990; 161:716-20.
71. JW Huggins, CM Hsiang, Cosgriff TM, Guang MY, Smith JI , WU ZO et al. Prospective, double-blind, concurrent, placebo controlled clinical trial of intravenous ribavirin therapy of hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis* 1991;164: 1119-27.
72. Živković M, Todorović Z, Čanović P Mijanović Ž. Primena ribavirina u lečenju hemoragijske groznice sa bubrežnim sindromom. *Med Pregl* 2009;62:63-7.
73. Radošević Z, Mohaček I. The problem of nephropathia epidemica Myhrman-Zettrholm in relation to acute interstitial nephritis. *Acta Med Scand* 1954;149:221-8.
74. Vesenjank-Hirjan J, Borčić B. Hemoragična groznica s bubrežnim sindromom (HGBS) u Hrvatskoj (Jugoslavija). *Etiologija. Liječ Vjesn* 1986;108:197-9.

75. Ropac D, Popović V, Baltić J, Kobetić T, Komatina G, Gligić A. Epidemiološki i klinički podaci o epidemiji hemoragijske groznice s bubrežnim sindromom. *Med Jad* 1991; 21:107-114.
76. Gligić A, Stojanović R, Obradović M, Hlača D, Dimković N, Diglišić G et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Yugoslavia: epidemiological and epizootiological features of a nationwide outbreak in 1989. *Eur J Epidemiol* 1992; 8(2):816-25.
77. Kuzman I. Hemoragijska vrućica s bubrežnim sindromom u Hrvatskoj-uvijek aktualna bolest. *Acta Med Croatica* 2003;57:333-35.
78. Miletić-Medved M, Markotić A, Kuzman I, Marić Z, Avsic-Zupanc T. [An epidemic of hemorrhagic fever with renal syndrome at the therapeutic community for treatment of psychoactive drug dependence in Ivanovac]. *Acta Med Croatica* 2003;57:361-64
79. Medved MM, Markotić A, Cebalo L, Turković B, Županc TA. Haemorrhagic fever with renal syndrome in Croatia. *Lancet* 2002;360:415-6.
80. Cvetko L, Markotic A, Plyusnia A, Margetić J, Miletić-Medved M, Turk N et al. Puumala virus in Croatia in the 2002 HFRS outbreak. *J Med Virol* 2005;77:290-294.
81. Anonimno. Izvještaj o kretanju zaraznih bolesti HZZJZ.
82. Đulić B, Vidinić Z. Prilog poznavanju sisavaca planine Dinare i Šatora. U: *Krš Jugoslavije-knjiga 5*. Zagreb: JAZU, 1967; 140-180.
83. Đulić B. Značajni sisavci Dinarskog krša i njihove ekološke karakteristike. U: *Simpozij o zaštiti prirode u našem kršu*. Zagreb: JAZU, 1971: 213-237.
84. Settergen B, Ahlm C, Alexeyev O, Billheden J, Stegmayer B. Pathogenetic and clinical aspects of the renal involvement in hemorrhagic fever with renal syndrome. *Ren Fail* 1997; 19:1-14.



85. Glass GE, Watson AJ, LeDuc JW, Kelen GD, Quinn TC, Childs JE. Infection with a ratborne hantavirus in US residents is consistently associated with hypertensive renal disease. *J Infect Dis* 1993;167:614-20.
86. LeDuc JW, Childs JE, Glass GE. The Hantaviruses, etiologic agents of hemorrhagic fever with renal syndrome: a possible cause of hypertension and chronic renal disease in the United States. *Annu Rev Public Health* 1992;13:79-98.
87. Wasswr WG, Rossi CA, Glass GE. Hantavirus antibodies in New York. *Ann Intern Med* 1997;127:166-7.
88. George J, Patnaik M, Bakshi E, Levy Y, Ben-David A, Ahmed A et al. Hantavirus serpositivity in Israeli patients with renal failure. *Viral Immunol* 1998;11:103-8.
89. Rubini ME, Jablon S, Mc Dowell ME. Renal residuals of acute epidemic hemorrhagic fever. *Arch Intern Med* 1960; 106:378-87.
90. Shapiro IA. Electrolyte excretion in patients with a history of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Urologiia i Nefrologiia* 1990;1:10-2
91. Niklasson B, Hellsten G, Le Duc J. Hemorrhagic fever with renal syndrome. A study of sequelae following nephropathia epidemica. *Arch Virol* 1994; 137:241-7.
92. Mustonen J, Mäkelä S, Helin H, Helenterä A, Mietinnen M, Partanen J, Pasternack A. Mesangiocapillary glomerulonephritis caused by Puumala hantavirus infection. *Nephron* 2001; 89:402-7.
93. Shutov A, Maximova E, Potrashkova K, Bruzgacheva O. Haemorrhagic fever with renal syndrome and chronic renal failure. *Lancet* 1996; 348:1594-5.
94. Ledina D, Bradarić N, Ivić I, Marasović D, Radović D, Ostojić-Bakotin V et al. Je li moguće trajno oštećenje bubrežne funkcije nakon preboljele hemoragijske vrućice s bubrežnim sindromom? *Acta Med Croatica* 2003; 57:365-68.

95. Pekić S, Cvijović G, Stojanović M, Kendereski A, Micić D i Popović V. Hypopituitarism as a late complication of hemorrhagic fever. *Endocrine* 2005;26:79-82.
96. Čižman B, Furlan P, Kaplan-Pavlović S, Drinoveč J, Avšić T. Follow-up of patients with HFRS. In: Proc Int Symp Hemorrhagic fever with renal syndrome, Hubei, China, 31 October-2 November, 61:150. 1988
97. Tulumović D, Imamović G, Mesić E, Hukić M, Tulumović A, Imamović A et al. Comparison of the effect of Puumala and Dobrava viruses on early and long –term renal outcomes in patients with haemorrhagic fever with renal syndrome. *Nephrology* 2010;15:340-3.
98. Davies EA, Rooney PJ, Coyle PV, Simpson DI, Montgomery IW, Stanford CF. Hantavirus and Leptospira. *Lancet* 1998;2:460-1.
99. Miettinen MH, Mäkelä SM, Ala-Houhala IO, Huhtala HS, Kööbi T, Vaheri AI et al. Tubular proteinuria and glomerular filtration 6 years after puumala hantavirus-induced acute interstitial nephritis. *Nephron* 2009;112:115-20.
100. Miettinen MH, Mäkelä SM, Ala-Houhala IO, Huhtala HS, Kööbi T, Vaheri AI et al. Ten-year prognosis of Puumala hantavirus-induced acute interstitial nephritis. *Kidney international* 2006;69:2043-48.
101. Pergam SA, Schmidt DW, Nofchissey RA, Hunt WC, Harford AH i Goade DE. Potential renal sequelae in survivors of hantavirus cardiopulmonary syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 2009;80:279-85.
102. Courten MP, Ksiazek TG, Rollin PE, Khan AS, Daily PJ, Knowler WC. Seroprevalence study of hantavirus antibodies in Pima indians with renal disease. *JID* 1995;171:762-3.
103. Gluhovschi G, Rosca A, Margineanu F. Hantavirus-specific IgG and IgM in balkan endemic nephropathy (BEN) and chronic renal disease . *Facta Universitatis* 2002;9:76-8.

104. Cohen JJ, Harrington JT, Madias NE. Hantavirus Nephropathy. *Kidney Int* 1995;48:887-92.
105. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C: Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004;351:1296 – 1305.
106. Tesfamariam B, DeFelice A. Endothelial injury in the initiation and progression of vascular disorders. *Vascul Pharmacol* 2007; 46:229-37.
107. Martin J, Collot-Teixeira S, McGregor L, McGregor JL. The dialogue between endothelial cells and monocytes/macrophages in vascular syndromes. *Curr Pharm Des* 2007; 13:1751-9.
108. Mu H, Chai H, Lin PH, Yao Q, Chen C. Current update on HIV-associated vascular disease and endothelial dysfunction. *World J Surg* 2007; 31:632-43.
109. Mizia-Steck K. Cytokines and adhesive molecules in detection of endothelial dysfunction *Pharmacol Rep* 2006; 58:21-32.
110. Landray MJ, Wheeler DC, Lip GY, Newman DJ, Blann AD, Mc Glynn FJ et al. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: The chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study. *Am J Kidney Dis*. 2004;43:244-53.
111. Staunton DE, Merluzzi VJ, Rothlein R, Barton R, Marlin SD, Springer TA. A cell adhesion molecule, ICAM-1, is the major surface receptor for rhinoviruses *Cell* 1989; 56:849-53.
112. Van de Stolpe, Van de Saag PT. Intracellular adhesion molecule-1. *J Mol Med* 1996; 74:13-33.

113. Osborn L, Hession C, Tizard R, Vasallo C, Luhowskyj S, Chi-Rosso G et al. Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1 a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell* 1989; 59:1203
114. Vaccaro F, Picone FP, Montalto G, Cerasola G. Circulating levels of adhesion molecules in chronic kidney disease correlate with the stage of renal disease and with C-reactive protein. *Arch Med Res* 2007; 38:534-8.
115. Jacobson SH, Egberg N, Hylander B, Lundahl J. Correlation between soluble markers of endothelial dysfunction in patients with renal failure. *Am J Nephrol* 2002;22:42-7.
116. Raftery MJ, Kraus AA, Ulrich R, Krüger DH, Schönrich G. Hantavirus infection of dendritic cells. *J Virol* 2002;76:10724-33.
117. Song JS, Min CH, Kang E, Yu SH. Expression of ICAM-1 on the Hantaan virus-infected human umbilical vein endothelial cells. *Korean J Intern Med* 1999;14:47-54.
118. Temonen M, Mustonen J, Helin H, Pasternack A, Vaheri A, Holthöfer H. Cytokines, adhesion molecules, and cellular infiltration in nephropathia epidemica kidneys: an immunohistochemical study. *Clin Immunol Immunopathol* 1996;78:47-55.
119. Suliman ME, Qureshi R, Heimbürger O, Lindholm B and Stenvinkel P. Soluble adhesion molecules in end-stage renal disease: a predictor of outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:1603-10.
120. Ley K, Tedder TF. Leukocyte interactions with vascular endothelium. New insights into selectin-mediated attachment and rolling. *J Immunol* 1995;155:525-8
121. Tedder TF, Steber DA, Chen A, Engel P. The selectins: vascular adhesion molecules. *FASEB J* 1995;9:866-73.
122. Bevilacqua R.P, Nelson RM. Selectins. *J.Clin. Invest* 1993; 91:379-87.

123. McEver. Selectins. *Curr Opin Immunol* 1994;6:75-84.
124. Martin J, Collot-Teixeira S, McGregor L, McGregor JL. The dialogue between endothelial cells and monocytes/macrophages in vascular syndromes. *Curr Pharm Des* 2007; 13:1751-9.
125. Bird MI, Foster MR, Priest R, Malhotra R. Selectins: physiological and pathophysiological roles. *Biochem Soc Trans* 1997; 25:1199-206.
126. Holvoet P, Collen D. Thrombosis and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997;8:320-8.
127. Schrijvers BF, Flyvberg A, De Vriese AS. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int* 2004;65:2003-17.
128. Nakagawa T, Sato W, Satin YY, Glusakova O, Croker B, Atkinson MA et al: Uncoupling of vascular endothelial growth factor with nitric oxide as a mechanism for diabetic vasculopathy. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:736-45
129. Stam F, van Guldener C, Becker A, Dekker JM, Heine RJ Boter LM et al. Endothelial dysfunction contributes to renal function-associated cardiovascular mortality in a population with mild renal insufficiency: the Hoorn study. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:537-45.
130. Wannamethee SG, Shaper AG, Lowe GD, Lennon L, Rumpley A, Whincup PH. Renal function and cardiovascular mortality in elderly man: the role of inflammatory, procoagulant, and endothelial biomarkers. *Eur Heart J* 2006; 27:2975-81.
131. Bertoni E, Rosati A, Larti A, Marciai A, Marciai C, Zanazzi M et al. Chronic kidney disease is still present after renal transplantation with excellent function. *Transplant Proc* 2006; 38:1024-5.

132. Malyszko JS, Malyszko J, Hryszko T, Kozminski P, Pawlak K, Mysliwiec M. Markers of endothelial damage in patients on hemodialysis and hemodiafiltration. *J Nephrol* 2006; 19:150-4.
133. Landray MJ, Wheeler DC, Lip GY, Newman DJ, Blann AD, McGlynn FJ et al. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study. *Am J Kidney Dis* 2004; 43:244-53.
134. Stanvinkel P. New insight on inflammation in chronic kidney disease-genetic and non-genetic factors. *Nephrol Ther* 2006;2:111-9.
135. Stenvinkel. Inflammation in end-stage renal disease: the hidden enemy. *Nephrology* 2006; 11:36-41.
136. Kaysen GA, Eiserich JP. Characteristics and effects of inflammation in end-stage renal disease. *Semin Dial* 2003;16:438-46.
137. Kuzman I, Markotić A. Velika epidemija hemoragijske vrućice s bubrežnim sindromom (HVBS) u Hrvatskoj (prvo priopćenje). *Infektol Glasn* 2002;22:77-79.
138. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation modification of diet in renal disease study group. *Ann Intern Med* 1999;130:461-70.
139. Mathes RW, Page WF, Crawford HM, McBean AM, Miller RN. Long-term sequelae of hemorrhagic fever with renal syndrome attributable to hantaan virus in Korean war veterans. *Mil Med* 2005;170:315-9.
140. Sirotin BZ, Shapiro IA, Menshin VN. Tubulointerstitial changes in patients with a history of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Ter Arkh* 1989;61:51-9.

141. Glass GE, Childs JE, Watson AJ, Le Duc JW. Association of chronic renal disease, hypertension and infection with a rat-borne Hantavirus. *Arch Virol* 1990; (Suppl 11): 69-80.
142. Lombardi M, Dattolo P, Bartolozzi D, Leocini F, Salvadori M, Nicolletti L. Outcome of the haemorrhagic fever with renal syndrome in four Italian cases with a mean follow up to 7 years. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:458-9.
143. Kleinknecht D, Rollin P.E. Hypertension after hemorrhagic fever with renal syndrome. *Nephron* 1992;61:121.
144. Jovanović D, Škatarić V, Kovačević Z, Marić M, Gligić A, Romanović R. Akutna bubrežna insuficijencija kod hemoragijske groznice sa renalnim sindromom. *Vojnosanit Pregl* 1997;54:453-8.
145. Dudarev MV, Pimenov LT. Long-term outcomes and formation of chronic disease of the kidneys in patients with a history of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Ter Arkh* 2008;80:59-62
146. Sirotin BZ, Fedorchenko YL. Visualization of microcirculatory disorders in haemorrhagic fever with renal syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:721-22.
147. Puljiz I, Kuzman I, Markotić A, Turčinov D, Matić M, Makek N. Electrocardiographic changes in patients with haemorrhagic fever with renal syndrome. *Scand J Infect Dis* 2005;37(8):594-98.
148. Stam F, van Guldener C, Schwalkwijk CG, ter Wee PM, Donker AJM, Stehouwer CDA : Impaired renal function is associated with markers of endothelial dysfunction and increased inflammatory activity. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:892-898.
149. Jager A, van Hinsberg VWM, Kostense PJ, Emeis JJ, Nijpels G, Dekker JM et al. Increased level of soluble vascular cell adhesion molecule related to cardiovascular mortality in type 2 diabetes. *Diabetes* 2000;49:485-91.

150. Zoccali C. Endothelial dysfunction in CKD: a new pleyer in town? *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:783-5.
151. Stojanović M, Pekić S, Cvijović G, Miljić D, Doknić M, Nikolić-Djurović M et al. High risk of hypopituitarism in patients who recovered from hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2722-8.



## 8. ZAKLJUČCI

1. U našoj studiji pokazali smo da su se u jednog broja bolesnika koji su prije 14 godina preboljeli HVBS razvile kronične sekvele, a ujedno je ovo i jedna od studija s najduljim praćenjem oboljelih.
2. Vrijednosti krvnog tlaka u ispitanika koji su prethodno preboljeli HVBS bile su značajno više od vrijednosti krvnog tlaka u kontrolnoj skupini. Razlike su statistički značajne u sistoličkom, dijastoličkom i srednjem arterijskom tlaku u sva tri mjerenja.
3. Suženje krvnih žila i hipertenzivni fundus značajno su češći u skupini bolesnika nego u kontrolnoj skupini, a oštećenja kardiovaskularnog sustava očituju se i blažim promjenama u EKG-u u oko 1/3 ispitanika koji su prethodno imali HVBS.
4. Uočeno je smanjenje koncentracijske sposobnosti urina u osoba koje su preboljele HVBS u odnosu na ispitanike iz kontrolne skupine, ali je došlo do poboljšanja glomerulske filtracije u odnosu na nalaze tri godine nakon preboljelog HVBS-a.
5. U vojnika koji su prethodno preboljeli HVBS zabilježena je proteinurija u 24-satnom urinu, a ovo je ujedno i prva studija u kojoj je opisano povišenje mikroalbumina u 24-satnom urinu, što može korelirati sa stupnjem bubrežnog oštećenja. Kronične bubrežne promjene očitovale su se i nalazom nejasne kortikomedularne granice na UZV bubrega.
6. Sniženje vrijednosti osmolalnosti urina u skupini bolesnika, te povišenje vrijednosti urične kiseline u serumu i koncentracije  $\beta_2$  mikroglobulina u urinu upućuje na oštećenje tubularne funkcije.
7. U ispitanika nisu zabilježene učestale uroinfekcije izazvane drugim uzročnicima, te je na ovaj način isključena moguća uloga drugih mikroorganizama u razvoju kroničnih bubrežnih sekvela u naših ispitanika.

8. Vrijednosti GUK-a na gornjoj granici normale, te statistički značajno sniženje tiroksina u ispitanika koji su imali HVBS upućuju i na mogućnost razvoja endokrinoloških poremećaja.
9. Medijani vrijednosti transaminaza na gornjoj su granici referalnih vrijednosti, te je potrebno daljnje praćenje mogućeg razvoja jetrene lezije.
10. Većina ispitivanih bolesnika bila je 1995. godine inficirana virusom Puumala i imali su najčešće blagu do srednje tešku kliničku sliku, te nije bilo moguće analizirati vezu serotipa hantavirusa s kroničnim sekvelama i stupnjem endotelne disfunkcije.
11. U ispitanika s prethodno srednje teškim oblikom bolesti zabilježen je viši sistolički tlak u ležećem položaju, te nešto više vrijednosti Von Willebrandovog faktora, ALT-a i IgA, iako su ove laboratorijske vrijednosti bile u okviru referentnih vrijednosti.
12. Iako su se vrijednosti većine markera endotelne disfunkcije kretale unutar referentnih vrijednosti, statistički značajno više vrijednosti CRP-a i Von Willebrandova faktora u odnosu na kontrolnu skupinu upućuju na njihovu moguću prediktivnu vrijednost razvoja kroničnih sekvela.
13. Od važnosti je daljnje praćenje testiranih markera endotelne disfunkcije. Iako nisu pokazane statistički značajne razlike, većina parametara je bila viša u ispitanika s prethodnim HVBSom u odnosu na kontrole. Osobito je važno prospektivno pratiti ulogu sVCAM-a u urinu (četiri puta više vrijednosti) kao mogućeg pokazatelja razvoja i napredovanja kroničnih bubrežnih oštećenja. Korelacije navedenih markera s mikroalbuminurijom i  $\beta$ 2 mikroglobulinima govore u prilog ovom zaključku.
14. Nalaz kroničnih sekvela HVBS-a nalaže daljnje kliničko praćenje i ujednačavanje kriterija u bilježenju promjena u ovih bolesnika u cijeloj Europi gdje se HVBS pojavljuje.

## 9. SAŽETAK

**Cilj.** Cilj je ovog istraživanja bio ocijeniti stupanj kroničnih promjena na bubrezima, hipertenzije i stupanj endotelne disfunkcije u 30 hrvatskih vojnika 14 godina nakon preboljelog HVBS-a. Vojnici su 1995.godine preboljeli HVBS te su praćeni do 2009. godine kada im je učinjena detaljnija klinička obrada.

**Metode.** Trideset bolesnika koji su 1995. godine preboljeli HVBS kratkotrajno je hospitalizirano tijekom 2009. godine na Klinici za infektologiju KBC-a Split, gdje su im učinjeni fizikalni pregled, laboratorijska obrada i u tri navrata obrađen im je 24-satni urin, te su im određeni markeri endotelne disfunkcije u serumu i urinu (sICAM, sVCAM, P i E-selektin, VEGF). Bolesnicima je, također, učinjen EKG, pregled očnog dna i ultrazvuk trbuha, te scintigrafija bubrega u sedamnaestorici bolesnika. Od obrađivanih 30 bolesnika u njih 17 bolest je imala laki tijek, dok je kod 11 bolesnika imala srednje težak tijek u akutnoj fazi 1995. godine. Isti gore navedeni parametri uspoređeni su i kod ovih dviju grupa ispitanika.

Iste pretrage učinjene su ispitanicima iz kontrolne skupine, osim scintigrafije bubrega.

**Rezultati.** Obradom 30 bolesnika koji su preboljeli HVBS 1995. godine u sva tri mjerenja krvnog tlaka u sjedećem i u ležećem položaju zabilježene su statistički značajno više vrijednosti nego kod ispitanika iz kontrolne skupine. U skupini bolesnika zabilježene su i statistički značajno više vrijednosti CRP-a, Von Willebrandova faktora, sedimentacije eritrocitata, praktične razlike povišenih vrijednosti sVCAM i sICAM te P i E-selektina i VEGF-a. Vrijednosti proteina, mikroalbumina,  $\beta_2$  mikroglobulina u 24-satnom urinu, urata u krvi značajno su više u bolesnika negoli u kontrolnoj skupini. Također, u skupini bolesnika zabilježeni su smanjena osmolalnost urina, promjene na krvnim žilama očne pozadine, značajnije EKG promjene te nejasnija kortikomedularna granica bubrega na ultrazvučnom pregledu trbuha. Usporedbom bolesnika s lakim i onih sa srednje teškim tijekom bolesti kod onih sa srednje teškim tijekom bolesti u jednome mjerenju zabilježili smo veće vrijednosti

krvnog tlaka u ležećem i jednom u sjedećem položaju. Neznatno su više i vrijednosti sedimentacije eritrocita, CRP-a, Von Willebrandova faktora, mikroalbumina u 24-satnom urinu u bolesnika sa srednje teškim tijekom bolesti.

**Zaključak.** U obrađenih bolesnika koji su 1995. godine preboljeli HVBS prisutne su stalne promjene u vidu hipertenzije i proteinurije. U akutnoj fazi HVBS-a nastaje oštećenje mikrocirkulacije, oštećuju se epitelne stanice tubularnog aparata, što uvjetuje tubularnu disfunkciju. Oštećenje tubularnog aparata bubrega u naših bolesnika očituje se povišenjem vrijednosti  $\beta 2$  mikroglobulina u urinu, smanjenjem osmolalnosti, te povišenjem vrijednosti uričke kiseline u serumu. Hipertenzija koja nastaje kao kronična posljedica HVBS-a može pridonositi oštećenju glomerula, te pojavi mikroalbuminurije.

Potrebno je daljnje praćenje kroničnih promjena nakon preboljeog HVBS-a u raznim područjima Europe i Azije, od Dalekog istoka, gdje uglavnom prevladava infekcija serotipom Dobrava i Haantan, pa do sjeverozapanih područja Europe, gdje je najučestalija infekcija serotipom virusa Puumala. Poželjno bi bilo uskladiti kriterije za praćenje kroničnih posljedica nakon HVBS-a kako bi se što bolje usporedili rezultati i uspješno donio konačan stav o kroničnim promjenama.

## **10. SUMMARY:**

**Objective.** The objective of the research was to establish the degree of chronic lesions on kidneys, hypertension and proportion of endothelial dysfunction in 30 Croatian soldiers 14 years after recovery from HFRS. The soldiers suffered HFRS in 1995 and were clinically followed until 2009, when they underwent detailed clinical and laboratory tests.

**Methods.** Thirty patients who had been treated from HFRS in 1995 were hospitalized at the Department of infectious diseases of the Split University Hospital in 2009, for a short period of time, on which occasion they were subject to physical examination and lab assay, their 24-hour urine was analyzed three times, and markers of endothelial dysfunction both in serum and urine (sICAM, sVCAM, P and E-selectin, VEGF) were determined. The patients also had ECG, fundus examination and abdominal ultrasound, and seventeen of them underwent scintigraphy of kidneys. Out of total 30 treated patients, 17 had a mild form of disease, whereas 11 of them had medium-severe course of disease in acute phase 1995. The same parameters as mentioned above were also compared with these two groups of examinees.

Control group examinees had to undergo the same examinations, except for scintigraphy of kidneys.

**Results.** While processing 30 patients who had all overcome HFRS in 1995, all three measurements of blood pressure both in sitting and lying position have shown considerably higher values if compared with examinees from the control group. In the patients' group were also registered significantly higher values of CRP, von Willebrand factor, sedimentation of erythrocytes, practical difference of the increased values of sVCAM and sICAM, as well as P and E selectin and VEGF. The values of protein, microalbumen,  $\beta$ 2 microglobulin in 24-hour urine and urates in blood were also much higher in patients' than in the control group. Moreover, in the group of patients we have observed reduced osmolality of urine, changes in fundus, more significant ECG changes, whereas cortico-medullar renal line on abdominal

ultrasound proved to be less clear. Whilst comparing patients with mild and those with medium-severe course of disease, one measurement of blood pressure in lying and one in sitting position have shown higher values in the latter patients. Besides, the values of sedimentation of erythrocytes, CRP, von Willebrand factor, and microalbumen in 24-hour urine have been slightly increased in patients with medium-severe course of disease.

**Conclusion.** The treated patients who suffered from HFRS in 1995 have constant discomforts in the form of hypertension and proteinuria. The acute stage of HFRS leads to microcirculation disorder and damage of epithelial cells of tubular structure, causing tubular dysfunction. Tubular damage of kidneys in our patients is manifested through the increase of  $\beta_2$  microglobulin in urine, decrease of osmolality and increase of uric acid in serum. Hypertension as a chronic consequence of HFRS may contribute to damage of glomerulus and occurrence of microalbuminuria.

Chronic lesions occurring after HFRS should be monitored in various areas of Europe and Asia, from the Far East where Dobrava and Haantan infections are prevailing, to the northwest regions of Europe where Puumala type infection is the most common. It would be desirable and recommended to establish uniform criteria for monitoring the HFRS chronic consequences, that would enable comparisons and final standpoint related to chronic sequelae.

## 11. ŽIVOTOPIS

Dragan Ledina rođen je 4. travnja 1961. godine u Splitu. Srednju medicinsku školu završio je 1979. godine te je iste godine upisao Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu na kojem je diplomirao 1985. godine. Od 1985. godine do 1990. radio je u Domu zdravlja Omiš u službi opće medicine. Od godine 1990. radi na Klinici za infektivne bolesti KBC-a Split, a iste godine započeo je i specijalizaciju iz infektologije. Specijalistički ispit položio je 1995. godine na Klinici za infektivne bolesti „Dr Fran Mihaljević“ u Zagrebu s odličnim uspjehom. Temu magistarskog rada „Dinara - novo prirodno žarište hemoragijske groznice sa bubrežnim sindromom“ obranio je 2000. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Naziv primarijusa stekao je 2007 godine. Sudjeluje u nastavi na Medicinskom i Stomatološkom fakultetu u Splitu, te ima naslov asistenta, a također i u nastavi na studiju forenzike u Splitu. Objavio je ukupno 12 radova, od čega četiri rada u CC časopisima. Oženjen je i otac dvoje djece.