

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

Studij medicine

Marko Galić

**KVALITETA SUZNOG FILMA U
PACIJENATA S BLEFAROSPAZMOM
NAKON PRIMJENE BOTULINUM
NEUROTOKSINA**

Diplomski rad

Osijek, 2017.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

Studij medicine

Marko Galić

**KVALITETA SUZNOG FILMA U
PACIJENATA S BLEFAROSPAZMOM
NAKON PRIMJENE BOTULINUM
NEUROTOKSINA**

Diplomski rad

Osijek, 2017.

Rad je izrađen na Zavodu za oftalmologiju, Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Dubravka Biuk, dr. med., specijalist oftalmolog.

Rad ima 24 lista, 3 tablice i 3 slike.

Zahvala

Iskreno se zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Dubravki Biuk na stručnoj pomoći, uloženom trudu, vremenu te poticaju pri izradi diplomskog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji na bezuvjetnoj potpori, prijateljima i svima koji su na bilo koji način pozitivno pridonijeli mojem školovanju odnosno izgradnji mene kao osobe.

Hvala!

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Blefarospazam	1
1.2 Botulinum neurotoksin	4
1.3 Suzni film	5
2. HIPOTEZA	7
3. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	8
4. ISPITANICI I METODE	9
4.1 Ustroj istraživanja.....	9
4.2 Ispitanici	9
4.3 Metode.....	9
4.3 Statističke metode.....	12
5. REZULTATI.....	13
5.1 Osobitosti bolesnika	13
5.2 Floresceinski test	13
5.3 Test prekida suznog filma (TBUT)	13
5.4 Schirmerov test.....	14
6. RASPRAVA.....	16
7. ZAKLJUČAK	19
8. SAŽETAK.....	20
9. SUMMARY	21
10. LITERATURA	22
11. ŽIVOTOPIS	24

1. UVOD

1.1 Blefarospazam

Distonija je hiperkinetsko – hipotonusni sindrom koji označava spor i prolongiran spazam antagonističkih mišićnih skupina na udovima, trupu, glavi i vratu, koji dovode odgovarajući dio tijela u prolazno nepravilan položaj. Prema distribuciji, distonija može biti generalizirana, multifokalna, hemidistonija, segmentalna i fokalna (1). Blefarospazam je uz cervikalnu distoniju najčešći oblik fokalne distonije, a očituje se nevoljnim zatvaranjem vjeđa. Osnova poremećaja jest obostrana spastička kontrakcija potkožnih mišića vjeđa: *m. orbicularis oculi*, *m. corrugator supercili* i *m. procerus*. Ako se ne liječi, blefarospazam može značajno narušiti kvalitetu bolesnikova života, dovodeći do funkcionalne sljepoće (2, 3, 4, 5).

Premda je blefarospazam jedna od najčešćih oblika distonije u odrasloj dobi, zapravo se radi o razmjerno rijetkoj bolesti. Procjena prevalencije blefarospazma kreće se između 12 – 133 slučajeva blefarospazma na 1 000 000 osoba (5, 6). Ipak, pretpostavlja se da su navedene procjene podcijenjene budući da su temeljene na bolesnicima koji su dijagnosticirani od strane liječnika te podvrgnuti liječenju. Sukladno tomu, pretpostavlja se kako je stvarna prevalencija blefarospazma u populaciji zapravo veća (5). Srednja dob pojave blefarospazma iznosi 55.7 godina, a rizik nastanka bolesti raste s dobi bolesnika. Osim dobi, rizični faktor je i spol. Tako je blefarospazam gotovo tri puta češći u žena negoli u muškaraca. Ostali rizični faktori jesu: prijašnja bolest oka, članovi obitelji oboljeli od nekog oblika distonije te značajna trauma glave ili lica u osobnoj anamnezi (5, 6, 7, 8). Čini se kako zaštitnu ulogu imaju hipertenzija i konzumiranje kave (9).

S obzirom na uzrok, razlikuju se dva oblika blefarospazma: primarni i sekundarni. Primarni se blefarospazam još naziva i idiopatski blefarospazam odnosno benigni esencijalni blefarospazam. Iz naziva se bolesti može zaključiti kako je uzrok primarnog blefarospazma nepoznat. Ipak, smatra se da je etiologija primarnog blefarospazma multifaktorijalna i pretpostavlja složenu interakcije genetske predispozicije i čimbenika okoliša. S druge strane, uzrok je sekundarnog blefarospazma poznat, točnije sekundarni blefarospazam obično se pojavljuje kao posljedica strukturnih lezija mozga, u sklopu tardivnih sindroma, Parkinsonove bolesti, metaboličkih bolesti, infekcije i kao nuspojava nekih lijekova, osobito antipsihotika, benzodiazepina i antiepileptika (lamotrigin) (5, 10). Sekundarni se blefarospazam može javiti i kao posljedica drugih oftalmoloških bolesti poput blefaritis, sindroma suhog oka, keratitisa,

uveitisa, glaukoma, traume prednjeg segmenta oka i slabosti mišića, *m. orbicularis oculi* (2, 4, 5, 8). Mnogi se bolesnici žale na simptome suhog oka ili su preboljeli blefaritis kratko prije nastupa blefarospazma, no uzročno – posljedična povezanost sindroma suhog oka i blefaritisa na jednoj, te blefarospazma na drugoj strani, nije posve jasna (5, 11).

Patofiziologija distonije nije u potpunosti razjašnjena. Trenutna znanja o etiopatogenezi blefarospazma uvelike su temeljena na istraživanjima drugih oblika distonije jer je nesumnjivo da su različiti oblici distonije međusobno povezani patogenetskim mehanizmima. Pretpostavlja se da su tri komponentne važne u patofiziologiji blefarospazma: 1. Gubitak recipročne inhibicije kontrakcije antagonističkog mišića što se očituje istovremenom kontrakcijom mišića agonista i antagonista; 2. Povećana neuroplastičnost; 3. Poremećena osjetno – motorička integracija, tj. poremećaj u trigeminalnom refleksu treptanja (1, 3, 5)

Na temelju dosadašnjih istraživanja pretpostavlja se da se primarni poremećaj događa u živčanim krugovima u više struktura središnjeg živčanog sustava: bazalni gangliji, kora velikoga mozga, produljena moždina i mali mozak. Navedeno potvrđuju neuroradiološke tehnike poput morfometrije temeljene na vokselu, funkcionalne magnetske rezonancije te pozitronsko emisijske tomografije kojima su pronađene promjene volemna sive tvari, navlastito u bazalnim ganglijima, odnosno smanjeno ili pojačano iskorištavanje glukoza u više struktura središnjeg živčanog sustava. Slično drugim fokalnim distonijama, najvjerojatnija patofiziološka osnova jest smanjenje inhibitornih projekcija bazalnih ganglija u talamus s posljedičnom pojačanom aktivnošću motoričkog korteksa. Osim neuroradioloških, za razumijevanje patofizioloških mehanizama blefarospazma, važna su i neurofiziološka ispitivanja. Ona u prvom redu uključuju elektromiografsko ispitivanje aktivnosti mišića, *m. orbicularis oculi*, koja je u većina bolesnika s blefarospazmom značajno povećana i ispitivanje trigeminalnog refleksa treptanja (4, 5, 12, 13, 14)

Blefarospazam obično započinje učestalim i upadnim treptanjem koje je praćeno osjećajem suhoće oka i fotofobijom. Progresijom bolesti kroz razdoblje od dvije do sedam godina nastupa klonička, a zatim prolongirana tonička kontrakcija vjeđa s posljedično značajno narušenom kvalitetom svakodnevnog života. U najtežim slučajevima blefarospazam dovodi do intermitentne funkcionalne sljepoće. Blefarospazam u početku može biti unilateralan, no progresijom gotovo uvijek zahvatit će oba oka i manifestirati se bilateralnim, sinkronim spazmima vjeđa. „Okidači“ za pojavu navedenih nevoljnih kontrakcija mogu biti stres, jaka svjetlost, čitanje, gledanje televizije i rad na računalu. Slično drugim oblicima distonije, neki bolesnici mogu samostalno olakšati simptome blefarospazma koristeći se karakterističnim

„osjetnim trikom“ poput doticanja oka, pritiska na određene točke lica, govorom pa čak i pjevanjem. Nadalje, blefarospazam se ne javlja tijekom spavanja (2, 3, 4, 5).

U usporedbi s drugim oblicima distonije, distonija očnog kapka sklonija je širenju na druge mišićne skupine. Tako se uz blefarospazam može javiti i oromandibularna distonija, a navedena se kombinacija simptoma naziva *Meigeov sindrom*. Širenje je moguće i na dijelove vrata, trupa ili udova i najčešće se događa u prve dvije godine od pojave blefarospazma (15).

Osim motoričke, blefarospazam karakterizira i nemotorička simptomatologija. Ona uključuje osjetne simptome, psihijatrijske poremećaje, poremećaje spavanja i kognitivne smetnje. Osjetni simptomi obuhvaćaju osjećaj pijeska u oku, osjećaj suhoće oka te fotofobiju. Psihijatrijski poremećaji nisu specifični za blefarospazam. Mogu biti dio kliničkog spektra blefarospazma, no mogu se javiti i kao posljedica onesposobljenosti uzrokovane blefarospazmom. Nema čvrstih dokaza da je poremećaj spavanja izravno uvjetovan blefarospazmom, vjerojatnije je da radi o poremećaju spavanja u sklopu depresije uvjetovane blefarospazmom. Premda su neka istraživanja pokazala povezanost idiopatske distonije i smanjenja kognitivnih sposobnosti, malo je čvrstih dokaza o njihovoj povezanosti (4, 5).

Dijagnoza blefarospazma zasniva se na anamnezi i kliničkoj slici. U dijagnostičkom je postupku potrebno razlučiti primarni od sekundarnog blefarospazma isključujući česte uzroke sekundarnog blefarospazma kao što su druge oftalmološke bolesti ili uzimanje lijekova koji bi mogli uzrokovati distoniju, odnosno učiniti neurološki pregled i obradu kako bi se isključila patologija od strane središnjeg živčanog sustava (1, 4, 5, 10). U diferencijalnoj dijagnozi važno je razlučiti blefarospazam od apraksije očnog kapka uz napomenu da ta dva stanja mogu biti istodobno prisutna (16).

Liječenje blefarospazma podrazumijeva terapiju odgovarajućim lijekovima, terapiju injekcijama botulinum neurotoksina tipa A kao glavni terapijski postupak te kiruršku terapiju. U farmakoterapiji blefarospazma najčešće se primjenjuju levodopa, antikolinergici, spazmolitici (baklofen) i benzodiazepini (klonazepam). Do poboljšanja može dovesti i primjena tetrabenazina i klopazina. Rezultati farmakološkog liječenja varijabilni su i ograničeni nuspojavama lijekova. Terapija izbora u liječenju blefarospazma jesu: injekcije botulinum neurotoksina tipa A (kemo-denervacija). Znatno poboljšanje simptoma nakon tretmana javlja se u 95 – 98% bolesnika, a terapijski učinak u prosjeku traje 8 – 16 tjedana. Botulinum neurotoksin primjenjuje se subkutano iznad mišića ili izravno u mišić te se može primjenjivati opetovano, svakih 3 – 6 mjeseci ovisno o individualnom terapijskom odgovoru. U slučaju

neuspjeha terapije injekcijama botulinum neurotoksina tipa A, pristupa se modificiranoj miektomiji mišića, *m. orbicularis oculi*. Iako navedeni zahvat u većine bolesnika dovodi do poboljšanja, moguć je relaps bolesti. Uz to, ne smiju se zanemariti moguće nuspojave operativnog zahvata poput ožiljkavanja, ektropija vjeđe, keratitisa i facijalne asimetrije. U slučaju neuspjeha prethodno navedenih terapijski postupaka, može se pokušati s dubokom moždanom stimulacijom (2, 4, 5, 17)

1.2 Botulinum neurotoksin

Botulinum neurotoksin (BoNT) proizvod je anaerobne bakterije *Clostridium botulinum*. BoNT dimerni je protein sastavljen od teškog i lakog lanca međusobno povezanih disulfidnom vezom pri čemu je aktivna domena laki lanac. BoNT je jedan od najpotentnijih čovjeku poznatih toksina, budući da uzrokuje mlohavu paralizu sprječavajući otpuštanje acetilkolina u neuromišićnu sinapsu. Sedam je različitih serotipova BoNT-a označenih slovima A – G. U medicini se koriste isključivo serotipovi A i B.

Vežanjem za površinu živčane stanice posredstvom receptor – vezujuće domene dolazi do internalizacije BoNT-a u živčanu stanicu procesom endocitoze. Uslijed niskog pH u endocitotičnoj vezikuli dolazi do kidanja disulfidne veze te oslobađanja aktivnog lakog lanca BoNT-a. Nakon toga slijedi prijenos lakog lanca u citoplazmu živčane stanice. Laki je lanac metaloproteinaza koja zatim kida specifičan SNARE protein na presinaptičkim vezikulama koje sadrže acetilkolin. Posljedično je inhibirano spajanje presinaptičke vezikule i membrane živčane stanice, a time i egzocitoza acetilkolina u sinaptičku pukotinu sa susjednom mlohavom paralizom mišića. Različiti serotipovi BoNT-a djeluju na različite SNARE proteine. Serotip A djeluje na SNAP-25, a serotip B na VAMP-2 protein (18).

Trenutno je dostupno šest različitih pripravaka BoNT-a tipa A i B. Pripravci koji su dostupni u SAD-u jesu Botox[®] (onabotulinumtoksinA), Dysport[®] (abobotulinumtoksinA) i Xeomin[®] (incobotulinumtoksinA). Jedini komercijalno dostupan pripravak BoNT-a tipa B jest Myobloc[®] (rimabotulinumtoksinB).

Različiti su procesi proizvodnje navedenih pripravaka pa se posljedično razlikuje i učinkovitost pojedinih pripravaka. Iz istog razloga ne postoji univerzalno prihvatljiva formula za određivanje ekvivalentnih doza pojedinih formulacija BoNT-a. Neka istraživanja pokazuju kako su onabotulinumtoksinA i abobotulinumtoksinA u omjeru 1 : 4 podjednako učinkoviti s obzirom

na: terapijski učinak, trajanje terapijskog učinka i nuspojave. Istraživanje o učinkovitosti rimabotulinumtoksinaB oskudnija su s obzirom na to da su injekcije dotičnog pripravka bolnije te je on predviđen za bolesnika u kojih su se razvila protutijela na pripravke BoNT-a tipa A (17).

BoNT kemodenervacija terapijski je postupak izbora u liječenju blefarospazma. Učinak nastupa nakon 1 – 7 dana. Nuspojave su razmjerno česte, ali uglavnom blage. Najčešće su nuspojave suho oko, zamagljen vid, ptoza, diplopija, epifora, ektropij vjeđe i ekhimoze (5, 17). Za procjenu terapijskog učinka BoNT-a dostupne su odgovarajuće kliničke ljestvice. Danas se najčešće primjenjuje skala prema Jankovicu (prema engl. *Jankovic Rating Scale - JRS*) koja u obzir uzima težinu simptoma blefarospazma i učestalost njihova pojavljivanja pri čemu vrijednost 0 označava odsustvo simptoma, a vrijednost 4 stanje kada su simptomi izrazito izraženi, odnosno izrazito učestali. Osim navedene ljestvice, u uporabi je i indeks onesposobljenosti uzrokovane blefarospazmom (prema engl. *Blepharospasm disability index - BSDI*), koji je baziran na sposobnosti izvođenja radnji iz svakodnevnog života (čitanje, vožnja automobila i dr.) pri čemu vrijednost 0 označava u potpunosti nesmetano obavljanje određene radnje, a vrijednost 4 da je uslijed blefarospazma određenu radnju nemoguće izvoditi (19, 20).

1.3 Suzni film

Suzni se film smatra integralnom funkcionalnom komponentom prednje površine oka te njegova poremećena funkcija posljedično narušava i funkciju prednjeg segmenta oka. Suzni je film trilaminarna struktura, a međusobna interakcija triju slojeva presudna je za njegovu urednu funkciju (21).

Prednji lipidni sloj debljine je oko 1 μm , a najvećim ga dijelove luče Meibomove žlijezde smještene u tarzusu gornje i donje vjeđe. Ekskreciju sekreta izaziva treptanje komprimiranjem tkiva vjeđe. Glavne su uloge lipidnog sloja sprječavanje evaporacije vodenog sloja koji se nalazi ispod njega i podmazivanje oka prilikom treptanja. Srednji vodeni sloj debljine je oko 7 μm , a luče ga glavna i akcesorne suzne žlijezde. Njegova je uloga hidratacija površine oka, otplavljivanje stranih tijela i omogućavanje maksimalne optičke učinkovitosti rožnice. Uz to, vodeni sloj sadrži brojne elektrolite, enzime, laktoferin, imunoglobuline i metabolite. Unutarnji mukozni sloj, debeo je 0.02 – 0.05 μm , a luče ga vrčaste stanice spojnice. Mukozni sloj posjeduje svojstvo viskoelastičnost, tj. mogućnost širenja površinom oka u cilju prekrivanja

bilo kakve nepravilnosti ili oštećenja. Jedna od najvažnijih uloga mukoznog sloja jest podmazivanje oka što omogućuje kliženje vjeđe preko bulbusa uz minimalno trenje. Nadalje, mukozni je sloj važan i u zaštiti i hidrataciji površine oka, a pretpostavlja se da je i dodatan izvor imunoglobulina (21, 22).

Za urednu funkciju suznoga filma najbitnija je njegova stabilnost, a ona ovisi o kvaliteti, kvantiteti i omjeru pojedinih komponenti suznog filma. Mjerenje stabilnosti suznog filma od najveće je važnosti u procjeni integriteta suznog filma (22).

Procjena kvalitete suznog filma započinje anamnezom. Simptomi poput osjećaja pijeska u očima ili pečenja i žarenja upućuju na moguću disfunkciju suznog filma. Nakon biomikroskopskog pregleda, provodi se fluoresceinski test kojim se procjenjuje stanje kornealnog i konjunktivalnog epitela.

Iduća je dijagnostička metoda test vremena pucanja suznog filma (prema engl. *Tear break up test* – TBUT). Ovaj je test najpraktičnija i najrelevantnija pretraga funkcije suznog filma koja nam stoji na raspolaganju, premda TBUT veliki broj radova kritizira kao neprecizan i nereproducibilan. Naime, TBUT karakterizira visoka varijabilnost dobivenih rezultata koja proizlazi iz činjenice da ne postoji standardizirani način izvođenja TBUT-a. Navedeno je prije svega posljedica varijabilnosti u količini ukapanog fluoresceina i načina njegove primjene na površinu oka.

Posljednji test koji se primjenjuje jest Schirmerov test. Tim se testom mjeri isključivo vodena komponenta suznog filma. Schirmerov je test jedan od najprimjenjivaniji dijagnostičkih postupaka u dijagnostici suhog oka, premda veći broj istraživanja pokazuje kako je njegova klinička važnost mala. Razlog tomu je što ne postoji općeprihvaćeni način izvođenja, tj. u postupku izvođenja Schirmerova testa postoje značajne varijacije. Iz navedenog proizlazi da je usporedivost rezultata Schirmerova testa mala, no on ima dijagnostičku vrijednost, navlastito u diferencijaciji hiperevaporativnog i hiposekrecijskog suhog oka.

Zaključno valja istaknuti kako je anamneza i dalje ključna u dijagnostici disfunkcije suznog filma jer ne postoji dijagnostička metoda koja bi mogla pouzdano utvrditi postoji li disfunkcija suznog filma, niti o kojoj se podvrsti disfunkcije suznog filma radi. Jedan od razloga nepouzdanosti dijagnostičkih metoda jest njihova podložnost utjecaju nepatoloških parametara poput ispitivačeve i/ili bolesnikove subjektivnost odnosno instrumenata koji se koriste. Nadalje, ne postoji konsenzus o tome koji je dijagnostički postupak adekvatan za koji tip disfunkcije suznog filma, niti o tome kako pojedini dijagnostički postupak treba izvoditi (21, 22, 23).

2. HIPOTEZA

Primjena botulinum neurotoksina u liječenju bolesnika s blefarospazmom trećeg i četvrtog stupnja dovodi do poremećaja kvalitete suznog filma.

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanje jesu:

1. Usporediti kvalitetu suznog filma u bolesnika s blefarospazmom trećeg i četvrtog stupnja prije i nakon primjene botulinum neurotoksina.
2. Utvrditi moguću zaštitnu ulogu blefarospazma trećeg i četvrtog stupnja na površinu prednjeg segmenta oka.

4. ISPITANICI I METODE

4.1 Ustroj istraživanja

Istraživanje je ustrojeno kao prospektivno kohortno istraživanje, a provedeno je u vremenskom razdoblju od svibnja do kolovoza 2017. godine (24). Istraživanje je provedeno na Zavodu za oftalmologiju, Kliničkog bolničkog centra Osijek, Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

4.2 Ispitanici

U istraživanje je uključeno 30 odraslih ispitanica starijih od 50 godina u kojih je utvrđen primarni blefarospazam trećeg odnosno četvrtog stupnja prema Jankovicevoj skali te u kojih nije bilo kontraindikacija za liječenje botulinum neurotoksinom. Iz istraživanja su isključene ispitanice koje su bile podvrgnute kirurškom zahvatu na prednjem ili stražnjem segmentu oka te ispitanice koje se liječe od glaukoma. Sve su ispitanice pristale sudjelovati u istraživanju.






4.3 Metode

Svakoj je ispitanici uzeta oftalmološka anamneza, a zatim su učinjeni biomikroskopski pregled oka i testovi kojima se ispituje kvaliteta suznog filma: fluoresceinski test, TBUT, Schirmerov test.

4.3.1 Fluoresceinski test

Fluoresceinski test pretpostavlja ukapavanje 1 – 2 %-tne otopine fluoresceina te pregled biomikroskopom uz uključen kobalt plavi filter na procjepnoj svjetiljci. Fluorescein boji prekide u intracelularnim vezama između stanica kornealnog i konjunktivalnog epitela. Pritom za disfunkciju suznog filma patognomičan znak nije sama pojava fluorescein pozitivnih zona, nego njihova karakteristična distribucija na dnu rožnice i u vjednom rasporku. Interpretacija nalaza pri vitalnom bojanju fluoresceinom zasniva se na Oksfordskoj skali koja gradiira rožnicu i dvije spojnične zone, s bodovanjem 0 – 5 po zoni (Slika 1).

U ovom se istraživanju fluoresceinski test sastojao od ukapavanja jedne kapljice 1 %-tne otopine fluoresceina u donji forniks oka praćenom pregledom na biomikroskopu uz uključen kobalt plavi filter. Rezultat je očitao na Oksfordskoj skali (Slika 1).

PANEL	GRADUS	KRITERIJ
 A	0	Jednako ili manje od panela A
 B	I	Jednako ili manje od panela B, a više od panela A
 C	II	Jednako ili manje od panela C, a više od panela B
 D	III	Jednako ili manje od panela D, a više od panela C
 E	IV	Jednako ili manje od panela E, a više od panela D
> E	V	Više od panela E

Slika 1. Oksfordska skala (skaluu je reproducirao i na hrvatski jezik preveo autor)

4.3.2 Test prekida suznog filma (TBUT)

TBUT započinje ukapavanjem jedne kapi standardne dijagnostičke otopine fluoresceina u donji forniks oba oka. Nakon što se obriše eventualan višak tekućine s oba zatvorena oka, bolesnika se zamoli da učini nekoliko punih treptaja (3 – 5), a da zatim zadrži oči otvorenima koliko je dugo moguće i u prirodnom položaju vjeđa (niti neprirodno otvorene, niti gotovo zatvorene). Sljedeći je pregled na biomikroskopu uz uključen kobalt plavi filter. Bolesnika se zamoli da još jednom trepne, a zatim drži oči otvorenima kao i inače i više ne trepće. Od trenutka kada bolesnik otvori oči treba započeti brojati sekunde, a brojanje zaustaviti kada se u fluoresceinom obojenom suznom filmu pojave tamne mrlje. Dobivena vrijednost u sekundama jest TBUT. Relevantni nalaz jest pojava multiplih i difuzno razbacanih tamnih pukotina u suznom filmu. Vrijednosti testa dulje od 10 sekundi definiraju se kao uredan nalaz suznog filma. Vrijednosti od 5 – 10 sekundi znak su marginalno suhog oka, dok su vrijednosti manje od 5 sekundi patognomične za suho oko. Mjerenje je za svako oko potrebno ponoviti barem tri puta, odnosno onoliko puta dok se ne dobiju tri iste ili slične vrijednosti. Ako se unatoč opetovanom mjerenju vrijednosti TBUT testa razlikuju, tada se test opisuje kao „TBUT nepouzdan“.

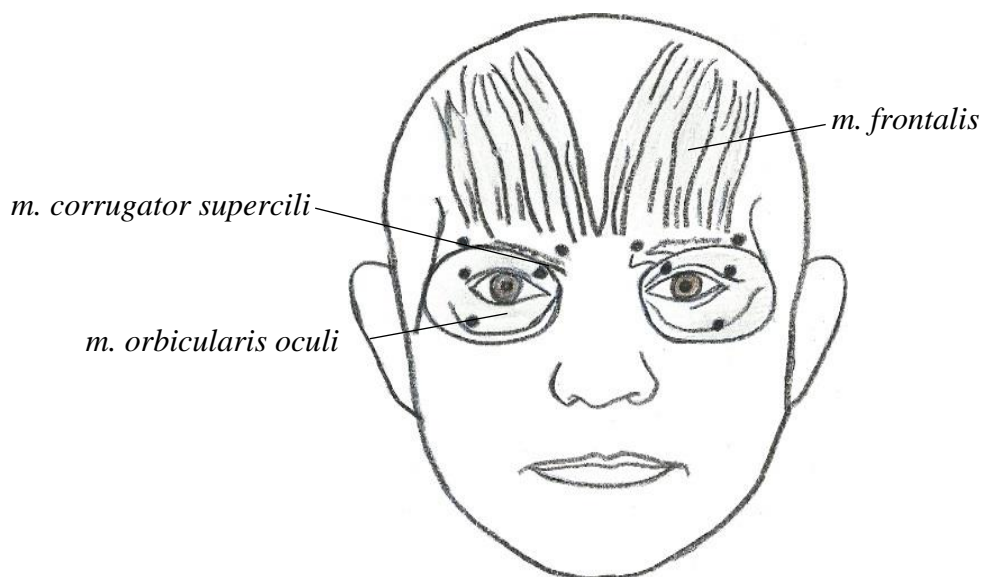
U ovom je istraživanju TBUT test proveden dodavanjem jedne kapljice sterilne fiziološke otopine na fluoresceinsku trakicu koja je potom prenesena na površinu oka. Srednja vrijednost 3 mjerenja uzeta je kao vrijednost TBUT testa.

4.3.3 Schirmerov test

Schirmerov test sastoji se u postavljanju zavrnutog filter papira u donji forniks na granici između srednje i vanjske trećine donje vjeđe. Bolesnika se zatim zamoli da oči drži otvorenima te po potrebi trepće, a nakon 5 minuta filter papir se izvadi te se izmjeri navlaženi dio. Više od 10 mm navlaženog filter papira smatra se urednim nalazom, 10 – 5 mm jest granični nalaz, a vrijednosti manje od 5 mm patološki su nalaz. U postupku izvođenja Schirmerova testa postoje značajne varijacije. Neki ga rade s lokalnom anestezijom, a neki bez nje, neki ga izvode s otvorenim, dok neki sa zatvorenim očima, netko provodi nazalnu stimulaciju suzenja, dok netko drugi ne.

U ovom je istraživanju Schirmerov test proveden bez anestezije, umetanjem zavrnutog kraja standardne trakice u donji forniks oka. Vrijednost testa izražena u milimetrima očitana je nakon 5 minuta.

Svi su testovi su učinjeni u dvije vremenske točke: na dan primjene BoNT-a kada je klinička slika blefarospazma najrazvijenija te 45 dana nakon primjene BoNT-a kada je njegovo djelovanje najizraženije. Primijenjeni tip BoNT-a jest onabotulinumtoksinA kojega je aplicirao jedan liječnik pritom se koristeći standardnim točkama primjene u liječenju blefarospazma (Slika 2). Svakoj je ispitanici aplicirano 2.5 – 5 jedinica BoNT-a po točki aplikacije.



Slika 2. Periorbitalno smještene crne točke označavaju uobičajena mjesta primjene botulinum neurotoksina u liječenju blefarospazma (nacrtao autor)

4.3 Statističke metode

Kategorijski podatci su predstavljeni apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podatci opisani su medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Razlike numeričkih varijabli (prije i nakon primjene botulinum neurotoksina), zbog odstupanja od normalne raspodjele, testirane su Wilcoxonovim testom. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na $\text{Alpha}=0,05$ (25). Za statističku analizu korišten je statistički program SPSS programa (inačica 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, SAD).

5. REZULTATI

5.1 Osobitosti bolesnika

Istraživanje je provedeno na uzorku od 30 žena, središnje dobi (medijan) 74 godine (interkvartilnog raspona od 61 do 77) u rasponu od 57 do 88 godina.

5.2 Fluoresceinski test

Wilcoxonovim testom ekvivalentnih parova utvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima fluoresceinskog test prema Oksfordskoj skali prije i 45 dana nakon primjene BoNT (Tablica 1).

Tablica 1. Vrijednosti fluoresceinskog testa prema Oksfordskoj skali prije i 45 dana nakon primjene BoNT-a[†]

	Medijan (interkvartilni raspon)		P*
	Prije BoNT	Nakon BoNT	
Fluoresceinski test	1 (1 - 2)	3 (3 - 4)	< 0,001

* Wilcoxonov test; † botulinum neurotoksin

5.3 Test prekida suznog filma (TBUT)

Prilikom prvog ispitivanja vrijednosti TBUT testa, u otprilike trećine ispitanica (11, 36.7%) rezultat testa označen je kao „TBUT nepouzdan“ (Tablica 2).

Tablica 2. Frekvencija i postotak vrijednosti TBUT* testa prije i nakon primjene BoNT-a[†]

TBUT (s)	Prije BoNT		Nakon BoNT	
	n	%	n	%
< 5	-	0	18	60
5 – 10	19	63	12	40
> 10	-	0	-	0
TBUT nepouzdan	11	36	-	0
ukupno	30	100	30	100

* test prekida suznog filma; † botulinum neurotoksin

Razlika u vrijednostima TBUT testa prije i nakon primjene BoNT provjerena je Wilcoxonovim testom ekvivalentnih parova pri čemu je utvrđena značajno niža vrijednost TBUT-a 45 dana nakon primjene BoNT-a (Tablica 3).

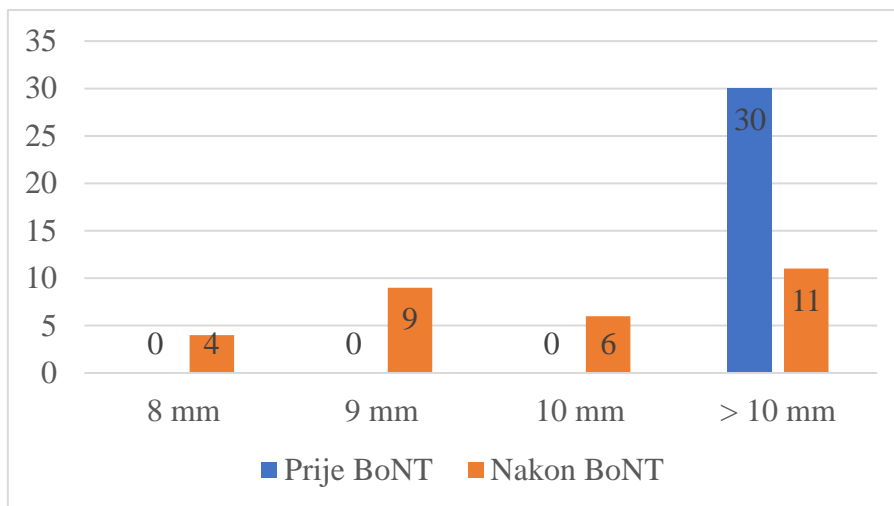
Tablica 3. Vrijednosti TBUT[†] testa prije i 45 dana nakon primjene BoNT-a[‡]

	Medijan (interkvartilni raspon)		P*
	Prije BoNT	Nakon BoNT	
TBUT (s)	6 (5 - 6)	4 (3.75 - 5)	= 0,005

* Wilcoxonov test; † test prekida suznog filma; ‡ botulinum neurotoksin

5.4 Schirmerov test

Prije primjene BoNT-a vrijednost Schirmerova testa u svih je bolesnika iznosila više od 10 mm (30, 100 %). Četrdesetpet dana nakon primjene BoNT najveći udio ispitanica i dalje postiže vrijednost veću od 10 mm (11, 37 %), no u dijela se ispitanica očitavaju niže vrijednosti (Slika 3).



Slika 3. Vrijednosti Schirmerova testa prije i nakon primjene botulinum neurotoksina

Vrijednost „više od 10 mm“ nije precizno određena te je skala svedena na ordinalnu razinu, a statistička je usporedba vrijednosti Schirmerova testa prije i nakon primjene BoNT-a provedena neparametrijskim Wilcoxonovim testom koji je pokazao statistički značajno niže rezultate Schirmerova testa nakon primjene BoNT-a ($p < 0.001$).

6. RASPRAVA

U istraživanju je ispitana kvaliteta suznog filma prije i nakon primjene BoNT-a kao terapije blefarospazma na uzorku od 30 ispitanica na Zavodu za Oftalmologiju KBC- a Osijek. Glavne ispitivane varijable bile su vrijednost fluoresceinskog testa, TBUT testa i Schirmerovog testa. Zatim je provedena usporedba vrijednosti triju testova prije i 45 dana nakon učinjenog terapijskog postupka.

Blefarospazam je jedan od najčešćih oblika fokalne distonije. Premda u dijela bolesnika ne predstavlja osobitu smetnju, zbog progresivne se prirode ove bolesti u većine bolesnika razvije funkcionalna sljepoća (2, 3). Jedina je fokalna distonija koja se obično javlja u starijoj životnoj dobi. Tako Jankovic i Orman u istraživanju provedenom na 250 bolesnika utvrđuju kako se blefarospazam najčešće javlja u petom i šestom desetljeću života (8). Peckhman i sur. u istraživanju kliničkih obilježja primarnog blefarospazma odnosno Meigeova sindroma te kombinacije blefarospazma i nekog drugog oblika fokalne distonije, navode kako je medijan dobi ispitanika iznosio 53 godine (26). Premda postoji odstupanje, središnja dob (medijan) ispitanika našeg istraživanja iznosi 73 godine (interkvartilnog raspona od 61 do 77 godina), te uzimajući u obzir malen uzorak, može se reći kako su dobiveni rezultati u skladu s činjenicom da je blefarospazam fokalna distonija starije životne dobi. Nadalje, Jankovic i Orman navode kako je blefarospazam tri puta češći u žena (8). U našem su istraživanju upravo svi ispitanici bili ženskoga spola.

Poremećaj kvalitete suznog filma (disfunkcija suznog filma) ponekada se izjednačava sa sindromom suhog oka. Premda još uvijek ne postoji općeprihvaćena definicija suhog oka, prema definicije radne skupine za suho oko (DEWS, prema engl. *Internation Dry Eye Workshop*) sindrom suhog oka, osim poremećaja kvalitete suznog filma, podrazumijeva i simptome neudobnosti te narušen vid (22). U našem je istraživanju procijenjena isključivo kvaliteta suznog filma, dočim preostale dvije karakteristike sindroma suhog oka nisu evaluirane. Ipak, ne treba zanemariti činjenicu kako sindrom suhog oka nerijetko prethodi i/ili koegzistira s blefarospazmom (5, 11). Štoviše, prema istraživanju Duttona i sur., sindrom suhog oka najčešća je komplikacija terapije BoNT-om (27).

Usporedbom vrijednosti TBUT-a i Schirmerovog testa prije i 45 dana nakon primjene BoNT-a uočena je statistički značajna razlika koja potvrđuje da je u ispitanica došlo do poremećaja kvalitete suznog filma. Nadalje, statistički značajno veća vrijednost fluoresceinskog testa

(pridruženi gradus po Oksfordskoj skali) potvrđuje zaštitni učinak blefarospazma na kornealnu i konjunktivalnu sluznicu. Rezultati drugih studija donekle su sukladni s našim pronalascima. Tako Gunes i sur. izvješćuju kako je u njihovu istraživanju, koje je uključivalo 12 bolesnika s blefarospazmom i 30 bolesnika s hemifacijalnim spazmom liječenih BoNT-om, došlo do smanjenja vrijednosti fluoresceinskog i Schirmerovog testa tri tjedna nakon aplikacije BoNT-a, uz napomenu kako je vrijednost TBUT testa tri tjedan i tri mjeseca nakon aplikacije BoNT-a bila značajno viša (28). Statistički značajno višu vrijednost TBUT-a jedan tjedan, jedan mjesec i tri mjeseca nakon primjene BoNT-a prijavljuje i Horwath – Winter i sur. u istraživanju provedenom na 16 bolesnika s primarnim blefarospazmom (11). Uz to, navodi kako je došlo do značajnog smanjenja vrijednosti Schirmerova testa. Premda u našem istraživanju nije došlo do povećanje, nego naprotiv do statistički značajnog smanjenja vrijednosti TBUT testa, vrijednost Schirmerovog testa i u našem je istraživanju bila značajno smanjena nakon primjene BoNT-a. Naprotiv, Spiera i sur. izvijestili su o značajnom povećanju suzenja i vrijednosti Schirmerova testa u bolesnika s blefarospazmom i kseroftalmijom oboljelih od Sjörgenova sindroma (29).

Navedene oprečnosti u rezultatima našega i prethodno navedenih istraživanja nakon terapije BoNT-om, osobito TBUT-a, možda se mogu objasniti razlikama u postupku izvođenju samoga testa, primjerice u količini ukapanog fluoresceina odnosno u okolišnim uvjetima koje nije uvijek moguće kontrolirati, a koji mogu utjecati na dobivene vrijednosti (brzina eliminacije suza, vlažnost zraka i dr.) (22). Nadalje, u našem su istraživanju testovi učinjeni 45 dana nakon primjene BoNT-a, te bi rezultati možda bili drukčiji da su testovi učinjeni u nekoj bližoj i/ili daljoj vremenskoj točki. Isto tako, poštujući isključne kriterije, ne možemo isključiti mogućnost neke druge oftalmološke bolesti koja utječe na kvalitetu suznog film. Konačno, neke nuspojave BoNT-a mogu narušiti suzni film. Tako BoNT-om uzrokovana slabost mišića, *m. orbicularis oculi*, može umanjiti drenažu suza u suznu vrećicu i tako povećati vrijednost dobivenu Schirmerovim testom. Slično, BoNT-om uzrokovan ektropij vjeđe pri čemu suzna točka više nije uronjena u suzno jezerce, nego se suze prelijevaju preko vjednog ruba (epifora), može dati veće vrijednosti Schirmerova testa. Naprotiv, smanjenje vrijednosti Schirmerova testa nakon BoNT-a, što je slučaj u našem istraživanju, može biti posljedica fiziološkog smanjenja količine suza u starijih osoba (11). Medijan dobi naših ispitanica iznosio je 73 godine. Isto tako, ne smije se zanemariti činjenica da BoNT ne djeluje isključivo na neuromuskularnu sinapsu, nego umanjuje i kolinergičnu inervaciju suznih žlijezda posljedično smanjujući sekreciju suza (11). Konačno, na vrijednosti testova kojima određujemo kvalitetu suznog filma nakon primjene BoNT-a, mogu utjecati tehnika i točke aplikacije koje odabire liječnik. Značajnu ulogu možda

ima i tip BoNT-a kojeg liječnik koristi, osobito jer jednake doze različitih BoNT-a, nisu nužno jednako djelotvorne (17). Pritom ulogu svakako ima i ukupno primijenjena doza koja je nerijetko prilagođena pojedinačnom bolesniku kako bi se ostvario terapijski cilj, tj. umanjio ili uklonio blefarospazam.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- ❖ Primjena botulinum neurotoksina u bolesnika s blefarospazmom trećeg i četvrtog stupnja dovodi do poremećaja kvalitete suznog filma.
- ❖ Blefarospazam trećeg i četvrtog stupnja ima zaštitni učinak na površinu prednjeg segmenta oka.

8. SAŽETAK

Cilj: Cilj ovog istraživanja jest usporediti kvalitetu suznog filma u bolesnika s blefarospazmom trećeg i četvrtog stupnja prije i nakon primjene botulinum neurotoksina (BoNT) te utvrditi moguću zaštitnu ulogu blefarospazma trećeg i četvrtog stupnja na površinu prednjeg segmenta oka.

Ustroj studije: Prospektivno kohortno istraživanje.

Ispitanici i metode: U istraživanje je uključeno 30 ispitanica starijih od 50 godina u kojih je utvrđen primarni blefarospazam trećeg odnosno četvrtog stupnja i u kojih nije bilo kontraindikacija za liječenje BoNT-om. Iz istraživanja su isključene ispitanice koje su bile podvrgnute kirurškom zahvatu na prednjem ili stražnjem segmentu oka te ispitanice koje se liječe od glaukoma. Za utvrđivanje kvalitete suznog filma korišteni su sljedeći testovi: fluoresceinski test, test prekida suznog filma (TBUT) i Schirmerov test. Testovi su učinjeni na dan primjene BoNT-a, kada je klinička slika blefarospazma najrazvijenija, te 45 dana nakon primjene BoNT-a, kada je njegov učinak najizraženiji.

Rezultati: Istraživanjem je dobivena statistički značajna razlika u vrijednosti TBUT-a i Schirmerova testa prije i 45 dana nakon primjene BoNT-a. Statistički značajna razlika također je utvrđena u vrijednostima fluoresceinskog testa prije i 45 dana nakon primjene BoNT-a.

Zaključak: Primjena BoNT-a u bolesnika s blefarospazmom trećeg i četvrtog stupnja dovodi do poremećaja kvalitete suznog filma. Blefarospazam trećeg i četvrtog stupnja ima zaštitni učinak na površinu prednjeg segmenta oka.

Ključne riječi: blefarospazam; botulinum neurotoksin; kvaliteta suznog filma

9. SUMMARY

Objective: The aim of this study was to compare the quality of tear film in patients with grade III or IV blepharospasm before and after the administration of botulinum neurotoxin (BoNT) and to determine the possible protective role of Stage III and Stage IV blepharospasm on the surface of the anterior segment of the eye.

Study design: Prospective Cohort Study.

Participants and Methods: The study included 30 female patients, older than 50 years of age, who suffered from Stage III or IV blepharospasm. There were no contraindications for treatment with BoNT. Subjects who had undergone surgical procedures either on anterior or posterior segments of the eye, and subjects treated for glaucoma, were excluded from the study. To determine tear film quality, the following tests were used: fluorescein test, tear breakup time (TBUT) and Schirmer's Test. Tests were performed on the day of BoNT application, when the clinical picture of blepharospasm was most developed, and 45 days after BoNT administration, when its effect was most evident.

Results: A statistically significant difference in TBUT and Schirmer's Test values was obtained before and 45 days after BoNT administration. A statistically significant difference was also determined for fluorescein test values before and 45 days after BoNT administration.

Conclusion: The use of BoNT in patients with Stage III and Stage IV blepharospasms leads to impairment of tear film quality. Stage III and Stage IV blepharospasms have a protective effect on the surface of the anterior segment of the eye.

Keywords: blepharospasm; botulinum neurotoxin; tear film quality

10. LITERATURA

1. Brinar V i sur. Neurologija za medicinare. Zagreb: Medicinska naklada, Zagreb; 2009.
2. Yanoff M, Dunker J. Ophthalmology. London: Mosby; 2009.
3. Valls-Sole J, Defazio G. Blepharospasm: Update on Epidemiology, Clinical Aspects, and Pathophysiology. *Front in Neurol.* 2016;7:45.
4. Hallett M, Evinger C, Jankovic J, Stacy M. Update on blepharospasm: Report from the BEBRF International Workshop. *Neurology.* 2008;71(16):1275-1282.
5. Blepharospasm: Information, Treatment, Patient Support, Research [Internet]. Blepharospasm.org. 2017. Dostupno na stranici: <https://www.blepharospasm.org/index.html>. Datum pristupa: 17.08.2017.
6. Defazio, G, Livrea, P. Epidemiology of primary blepharospasm. *Mov Disord.* 2002;17(1): 7-12.
7. Defazio, G, Bbruzzese, G, Livrea, P, Berardelli, A. Epidemiology of primary dystonia. *Lancet Neurol.* 2004;3(11): 673-678.
8. Jankovic, J, Orman, J. Blepharospasm: demographic and clinical survey of 250 patients. *Ann Ophthalmol.* 1984;16(4): 371-376.
9. Defazio G, Martino D, Abbruzzese G, i sur. Influence of coffee drinking and cigarette smoking on the risk of primary late onset blepharospasm: a multicenter case-control study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;89:877-879.
10. Khooshnoodi, MA, Factor, SA, Jinnah, HA. Secondary Blepharospasm Associated with Structural Lesions of the Brain. *J Neurol Sci.* 2013;331(0): 98-101.
11. Horwath-Winter J. Botulinum toxin A treatment in patients suffering from blepharospasm and dry eye. *Br J Ophthalmol.* 2003;87(1):54-56.
12. Hallet M. Pathophysiology of dystonia. *J Neural Transm Suppl.* 2006; 1225-1229.
13. Kerrison JB, Lancaster JL, Zamarripa FE, i sur. Positron emission tomography scanning in essential blepharospasm. *Am J Ophthalmom.* 2003;136:846-852.
14. Suzuki Y, Mizoguchi S, Kiyosawa M, i sur. Glucose hypermetabolism in the thalamus of patients with essential blepharospasm. *J Neurol.* 2007;254:890-896.
15. Abbruzzese G, Berardelli A, Girlanda P, Marchese R, Martino D, Morgante F i sur. Long term assessment of the risk of spread in primary late-onset focal dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79:392-396.

16. Yoon WT, Chung EJ, Lee SH, Kim BJ, Lee WY. Clinical Analysis of Blepharospasm and Apraxia of Eyelid Opening in Patients with Parkinsonism. *J Clin Neurol.* 2005;1(2):159-165.
17. Hellman A, Torres-Russotto D. Botulinum toxin in the management of blepharospasm: current evidence and recent developments. *Ther Adv Neurol Disord.* 2015;8(2):82-91.
18. Pirazzini M, Rossetto O, Eleopra R, Montecucco C. Botulinum Neurotoxins: Biology, Pharmacology, and Toxicology. *Pharmacol Rev.* 2017;69(2):200-235.
19. Defazio G, Hallett M, Jinnah HA, i sur. Development and Validation of a Clinical Scale for Rating the Severity of Blepharospasm. *Mov Disord.* 2015;30(4):525-530.
20. Wabbels B, Jost WH, Roggenkämper P. Difficulties with differentiating botulinum toxin treatment effects in essential blepharospasm. *J Neural Transm.* 2011;118(6):925-943.
21. Bušić M, Kuzmanović Elabjer M, Bosnar D. *Seminaria ophthalmologica.* 3. izd. Zagreb: Cerovski d.o.o.; 2014.
22. Petriček I. Utjecaj suznog filma na vidnu funkciju [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2011.
23. Petriček I, Petriček G. Suvremeni pristup dijagnostici i terapiji suhog oka-prvi dio. *Medix.* 2007; 149-151.
24. Lukić IK. Vrste istraživanja. U: Marušić M, urednik. Uvod u znanstveni rad u medicini. Zagreb: Medicinska naklada; 2008. str. 37.
25. Ivanković D. i sur. Osnove statističke analize za medicinare. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 1988.
26. Peckham EL, Lopez G, Shamim EA, et al. Clinical Features of Patients with Blepharospasm: A Report of 240 Cases. *Eur J Neurol.* 2011;18(3):382-386.
27. Dutton JJ, Buckley EG. Long-term results and complications of botulinum A toxin in the treatment of blepharospasm. *Ophthalmology.* 1988;95(11):1529-1534.
28. Gunes A, Demirci S, Koyuncuoglu HR, Tok L, Tok O. Corneal and Tear Film Changes After Botulinum Toxin-A in Blepharospasm or Hemifacial Spasm. *Cornea.* 2015;34(8):906-910.
29. Spiera H, Asbsll PA, Simpson DM. Botulinum toxin increases tearing in patients with Sjörngn's syndrome: a preliminary report. *J Rheumatol.* 1997;24(9):1842-1843.

11. ŽIVOTOPIS

Opći podaci:

Ime i prezime: Marko Galić

Datum i mjesto rođenja: 30. listopada 1992.

Adresa stanovanja: Bošnjaci 85, 32281 Ivankovo

Telefon: +385 99 410 93 91

e-mail: mgmefos@gmail.com

Obrazovanje:

1999. – 2007. Osnovna škola August Cesarec, Ivankovo

2007. – 2011. Gimnazija Matije Antuna Reljkovića, Vinkovci

2011. – 2017. Medicinski fakultet Osijek, Studij medicine

Ostale aktivnosti:

2011. – 2017. Član pjevačkog zbora Medicinskog fakulteta Osijek

2011. – 2015. Aktivni sudionik manifestacije „Tjedan mozga“ u organizaciji udruge SenzOS

2015. Aktivni sudionik na Internacionalnom kongresu studenata i mladih doktora biomedicine u Tuzli, BIH („Komplikacije lijevog atrijskog tromba, imitacija miksoma“)

2016. Aktivno sudjelovanje na Studentskom kongresu neuroznanosti u Rijeci („Prikaz slučaja: Klinička prezentacija Neuro-Behçetove bolesti“)