

Sveučilište u Zagrebu VETERINARSKI FAKULTET

Marija Mamić

UČINAK PROMJENA INTRAKRANIJSKOG TLAKA NA INTRAOKULARNI TLAK I ŠIRINU OVOJNICE OPTIČKOG ŽIVCA NA MODELU INTRAKRANIJSKE HIPERTENZIJE U SVINJA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2025.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Marija Mamić

THE EFFECT OF INTRACRANIAL PRESSURE CHANGES ON INTRAOCULAR PRESSURE AND OPTIC NERVE SHEATH DIAMETER IN A PORCINE MODEL OF INTRACRANIAL HYPERTENSION

DOCTORAL DISSERTATION

Zagreb, 2025



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Marija Mamić

UČINAK PROMJENA INTRAKRANIJSKOG TLAKA NA INTRAOKULARNI TLAK I ŠIRINU OVOJNICE OPTIČKOG ŽIVCA NA MODELU INTRAKRANIJSKE HIPERTENZIJE U SVINJA

DOKTORSKI RAD

Mentori:

prof.dr.sc. Boris Pirkić, dr.med.vet prof.dr.sc. Marijan Klarica, dr.med.

Zagreb, 2025.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Marija Mamić

THE EFFECT OF INTRACRANIAL PRESSURE CHANGES ON INTRAOCULAR PRESSURE AND OPTIC NERVE SHEATH DIAMETER IN A PORCINE MODEL OF INTRACRANIAL HYPERTENSION

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors:

Prof. Boris Pirkić, DMV, PhD

Prof. Marijan Klarica, MD, PhD

Zagreb, 2025

O MENTORIMA

Prof. Pirkić istaknuti je stručnjak u području veterinarske medicine u Hrvatskoj, s posebnim interesima i doprinosima u neurokirurgiji i oftalmologiji. Godine 1987. upisao je Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, gdje se tijekom studija posvetio znanstvenom radu, osobito na projektima povezanim s istraživanjem pentadekapeptida BPC 157. Ovi su projekti koji su realizirani u suradnji s Medicinskim i Veterinarskim fakultetom u Zagrebu rezultirali su sa dvije Rektorove nagrade. Diplomirao je 1995. godine nakon čega je nastavio daljnje obrazovanje i profesionalni razvoj te magistrirao 2001. godine. Svoju doktorsku disertaciju obranio je 2006. godine. Uz veterinarsku medicinu, prof. Pirkić posvetio se i filozofiji. Godine 2004. upisao je studij filozofije na Filozofskom fakultetu Družbe Isusove u Zagrebu kao izvanredni student, koji je apsolvirao 2006. godine. Profesionalnu karijeru započeo 1996. godine kada se zaposlio na Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. U veljači 2012., imenovan je predstojnikom Klinike za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju. Ovo dužnost obnašao je kroz tri mandata, čime je dao izniman doprinos razvoju klinike i unapređenju njezinog rada. Godine 2011. izabran je u znanstveno zvanje znanstvenog savjetnika, dok je 2015. potvrđen u zvanje redovitog profesora. U travnju 2018. godine imenovan je voditeljem Sveučilišne veterinarske bolnice te je tu dužnost obnašao godinu dana.

Znanstveno-istraživački i stručni rad

Kao specijalist u području neurokirurgije i oftalmologije, prof. Pirkić izveo je više od 700 zahvata na kralježnici kod životinja u posljednjih 15 godina. Osim toga, prije tri godine započeo je s izvođenjem složenih operacija unutar lubanjske šupljine, fokusirajući se na onkološke i degenerativne bolesti. Posebno se ističe njegov doprinos obrazovanju, budući da je neurokirurgiju uveo kao novu nastavnu jedinicu u dodiplomsku i poslijediplomsku nastavu na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu. U suradnji s prof. dr. sc. Marijanom Klaricom sudjeluje u istraživačkim projektima u sklopu Centra izvrsnosti za neuroznanost. Njihov rad uključuje izvođenje pokusa na velikim pokusnim životinjama s ciljem proučavanja dinamike cerebrospinalnog likvora. Redoviti je član Američkog društva veterinarskih oftalmologa (ASVO) od 1998. godine. Godine 2023. prof. Pirkić postao je član Hrvatskog neurokirurškog društva i Hrvatskog liječničkog zbora, čime je dodatno proširio svoje profesionalne i znanstvene aktivnosti te ojačao suradnju s kolegama iz medicine. Popis objavljenih relevantnih radova u posljednjih pet godina:

BAKULA, M., T. KUZMAN, M. RADOŠ, K. STARČEVIĆ, I. JURJEVIĆ, M. MAMIĆ, B. PIRKIĆ, M. KLARICA (2024): Control values of intraocular pressure in different species: a review of literature. Croatian Medical Journal 65, 6; 518-529. https://doi.org/10.3325/cmj.2024.65.518

DMITROVIĆ, P., M. MAMIĆ, B. PIRKIĆ (2024): Neurofiziologija cerebrospinalnog likvora – što znamo nakon 100 godina njegova istraživanja? Veterinarska stanica 55, 3; 317-326. https://doi.org/10.46419/vs.55.3.1

HORVATIĆ, A., A. GELEMANOVIĆ, B. PIRKIĆ, O. SMOLEC, B. BEER LJUBIĆ, I. RUBIĆ, P. D. ECKERSALL, V. MRLJAK, M. McLAUGHLIN, M. SAMARDŽIJA et al. (2021): MultiOmics approach to elucidate cerebrospinal fluid changes in dogs with intervertebral disc herniation. International Journal of Molecular Sciences 22, 21; 11678, 23. https://doi.org/10.3390/ijms222111678

KRALJEVIĆ, A., F. KAJIN, I. KIŠ, N. BRKLJAČA BOTTEGARO, B. PIRKIĆ, T. BUREŠ, Z. VRBANAC (2021): Rehabilitacija pasa oboljelih od akutnog idiopatskog poliradikuloneuritisa - prikaz slučajeva. Veterinarska stanica 52, 2; 245563, 9. https://doi.org/10.46419/vs.52.2.6

LIPAR, M., B. PIRKIĆ, M. PEĆIN, B. RADIŠIĆ, O. SMOLEC, J. BUBIĆ ŠPOLJAR, B. ŠKRLIN, I. STOLIĆ (2020): Cerebrospinal fluid assessment in dogs with spinal tumors and intervertebral disk herniation. Veterinarska stanica 51, 4; 387-392. https://doi.org/10.46419/vs.51.4.6

MAMIĆ, M., B. PIRKIĆ, V. PLICHTA, T. KOVAČ, P. DMITROVIĆ (2020): Liječenje pasa s grudno-slabinskim sindromom. Veterinarska stanica 51, 3; 276-280. https://doi.org/10.46419/vs.51.3.4 Prof. dr. sc. Marijan Klarica istaknuti je hrvatski znanstvenik i profesor farmakologije na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Također je aktivan istraživač na Hrvatskom institutu za istraživanje mozga. Tijekom svoje bogate karijere ostavio je dubok trag u području farmakologije, s posebnim naglaskom na istraživanja vezana uz cerebrospinalnu tekućinu i poremećaje intrakranijalnog tlaka. Profesor Klarica diplomirao je medicinu 1984. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, gdje je stekao titulu doktora medicine. Akademski razvoj nastavio je na istom fakultetu, gdje je 1992. godine obranio doktorsku disertaciju i stekao titulu doktora znanosti. Kao postdoktorski stipendist, 1994. i 1995. godine usavršavao se u Synthelabo Recherche u Parizu, gdje je stekao dragocjeno međunarodno iskustvo. Svoju liječničku praksu započeo je odrađivanjem pripravničkog staža u Medicinskom centru u Zagrebu tijekom 1985. i 1986. godine. Godine 1987. započeo je znanstvenu karijeru kao istraživački asistent na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, gdje je kasnije napredovao u zvanja docenta (1992.–2001.), izvanrednog profesora (2002.–2007.) te redovitog profesora farmakologije, što je titula koju nosi od 2007. godine do danas.

Znanstveno-istraživačko i nastavno iskustvo

Profesor Klarica istaknuo se kao voditelj programskog projekta pod nazivom "Patofiziologija cerebrospinalne tekućine i primjena ultrazvuka". Rezultat njegovog rada na ovom području je 73 znanstvena rada, koji su indeksirani u prestižnoj bazi Scopus. Kao iznimno posvećen edukator, profesor Klarica već 37 godina predaje farmakologiju studentima medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Osim toga, već više od tri desetljeća predaje na poslijediplomskim studijima za specijaliste u područjima neurokirurgije, neurologije, psihijatrije, anesteziologije i farmakologije. Profesor Klarica obnašao je i brojne važne administrativne dužnosti. Od 1998. do 2008. bio je ravnatelj Centra za klinička istraživanja u neuroznanosti pri Medicinskom fakultetu i Hrvatskom institutu za istraživanje mozga. Od 2008. do 2014. godine obnašao je funkciju prodekana Medicinskog fakulteta, a između 2015. i 2021. godine bio je dekan ove institucije, gdje je vodio fakultet kroz izazovna razdoblja. Njegov glavni znanstveni interes usmjeren je na patofiziologiju i farmakologiju cerebrospinalne tekućine te istraživanje poremećaja intrakranijalnog tlaka. Njegova istraživanja i otkrića u ovom području imaju značajan utjecaj na razumijevanje i liječenje različitih neuroloških poremećaja. Popis objavljenih relevantnih radova u posljednjih pet godina:

BAKULA, M., T. KUZMAN, M. RADOŠ, K. STARČEVIĆ, I. JURJEVIĆ, M. MAMIĆ, B. PIRKIĆ, M. KLARICA (2024): Control values of intraocular pressure in different species: a review of literature. Croatian Medical Journal 65, 6; 518-529. https://doi.org/10.3325/cmj.2024.65.518

JOVANOVIĆ, I., J. NEMIR, D. GARDIJAN, M. MILOŠEVIĆ, Z. POLJAKOVIĆ, M. KLARICA, D. OZRETIĆ, M. RADOŠ (2021): Transient acute hydrocephalus after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and aneurysm embolization: a single center experience. Neuroradiology; https://doi.org/10.1007/s00234-021-02747-2

RADOŠ, M., M. ŽIVKO, A. PERIŠA, D. OREŠKOVIĆ, M. KLARICA (2021): No arachnoid granulations-no problems: number, size and distribution of arachnoid granulations from birth to 80 years of age. Frontiers in Aging Neuroscience 13, 698865. https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.698865

KLARICA, M., M. RADOŠ, M. VUKIĆ, D. OREŠKOVIĆ (2021): The physiology and pathophysiology of cerebrospinal fluid: new evidence. Croatian Medical Journal 62, 307-309. https://doi.org/10.3325/cmj.2021.62.307

RADOŠ, M., D. OREŠKOVIĆ, M. KLARICA (2021): The role of mesencephalic aqueduct obstruction in hydrocephalus development: a case report. Croatian Medical Journal 62, 411-419. https://doi.org/10.3325/cmj.2021.62.411

OREŠKOVIĆ, D., M. RADOŠ, M. KLARICA (2021): A contribution to the understanding of ocular and cerebrospinal fluid dynamics in astronauts during long-lasting spaceflight. Croatian Medical Journal 62, 420-421. https://doi.org/10.3325/cmj.2021.62.420

KLARICA, M., M. RADOŠ, G. ERCEG, I. JURJEVIĆ, A. PETOŠIĆ, Z. VIRAG, D. OREŠKOVIĆ (2022): Cerebrospinal fluid micro-volume changes inside the spinal space affect intracranial pressure in different body positions of animals and phantom. Frontiers in Molecular Neuroscience 15, 931091. https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.931091

AGARWAL, N., D. L. LEWIS, L. HIRSHLER, R. L. RIVERA, S. NAGANAWA, R. S. LEVENDOVSZKY, G. RINGSTAD, M. KLARICA et al. (2023): Current understanding of the anatomy, physiology, and magnetic resonance imaging of neurofluids: update from 2022 ISMRM imaging neurofluids study group workshop in Rome. Journal of Magnetic Resonance Imaging; https://doi.org/10.1002/jmri.28759

KUDELIĆ, N., I. KOPREK, M. RADOŠ, D. OREŠKOVIĆ, I. JURJEVIĆ, M. KLARICA (2023): Predictive value of the spinal CSF volume in the preoperative assessment of patients with idiopathic normal-pressure hydrocephalus. Frontiers in Neurology; https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1234396



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

IZJAVA

Ja, Marija Mamić, potvrđujem da je moj doktorski rad izvorni rezultat mojega rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima do onih navedenih u radu.

Zagreb, 2025.

SAŽETAK

UČINAK PROMJENA INTRAKRANIJSKOG TLAKA NA INTRAOKULARNI TLAK I ŠIRINU OVOJNICE OPTIČKOG ŽIVCA NA MODELU INTRAKRANIJSKE HIPERTENZIJE U SVINJA

Povišen intrakranijski tlak (IKT) danas predstavlja težak klinički i terapijski problem zbog nedovoljnog poznavanja fiziologije i patofiziologije neurofluida (krv, intersticijska tekućina, cerebrospinalni likvor). Budući da se IKT mjeri samo invazivnim putem, mogućnost mjerenja IKT-a neinvazivnim putem bio bi od iznimne koristi u medicini. U literaturi postoje oprečni podaci o povezanosti intraokularnog tlaka (IOT) koji se mjeri neinvazivno s IKT-om.

Kako bismo ispitali potencijalnu povezanost promjena IKT-a i IOT na novom modelu intrakranijske hipertenzije (IKH) u svinja (n=6) izazivali smo porast IKT-a postavljanjem Foleyevog katetera parijetalno epiduralno i pratili promjene IKT-a, IOT-a (invazivna - kanulacija i neinvazivna - TonoVet tehnika), te ultrazvučnim određivanjem pojedinih parametara stanja oka (AGL, 1-POS, 1-vitreus) i perioptičkih struktura (d-ON, d-ONS) dobivenih u kontrolnoj fazi, te u fazama porasta IKT-a i izazivanja cervikalne stenoze (prekid kraniospinalne komunikacije), kao i nakon IV primjene hiperosmolarne otopine manitola (10 %) u dozi od 1 g/kg kroz 15 min u svakoj od navedenih faza pokusa.

U kontrolnoj fazi nakon IV primjene manitola uočeni su tipični učinci na vitalne i biokemijske parametre, neuočljiv učinak na IKT, te blago sniženje IOT-a. U fazi IKH u svih jedinki je uspješno izazvan porast IKT-a (porast IKT-a s kontrolnih $10,2 \pm 2,2$ mmHg na 28,8 \pm 11,9 mmHg) dok se IOT nije značajnije promijenio (invazivni $16,4 \pm 1,8$ mmHg, neinvazivni $15 \pm 3,4$ mmHg). Primjena otopine manitola u ovoj fazi je dovela do značajnog pada IKT (19,32 \pm 5,8 mmHg), bez promjene IOT-a, ali uz značajniju promjenu d-ONS. Međutim, nakon izazivanja cervikalne stenoze, te primjene otopine manitola IKT je nastavio rasti (što je suprotno očekivanom), dok je d-ONS ostao proširen, a IOT i dalje ostao stabilan u okviru fizioloških vrijednosti.

Rezultati na našem novom modelu IKH ukazuju kako ne postoji povezanost promjena IKT i IOT, te da se preko mjerenja IOT ne može zaključivati o akutnim promjenama IKT-a. Uočene promijene d-ONS u raznim fazama pokusa ukazuju kako d-ONS u našem modelu relativno dobro odražava promjene IKT-a. Nakon postavljanja cervikalne stenoze uočavamo statistički značajno povećanje d-ONS što ukazuje kako je perioptički prostor djelomično preuzeo ulogu kompenzacijskog prostora.

U translacijskim istraživanjima veliki životinjski modeli, poglavito svinje, zbog sličnosti njihovog SŽS-a s ljudskim omogućuju korištenje suvremenog neuromonitoringa, istovjetnog kao i u ljudi, te olakšavaju prijenos eksperimentalnih saznanja u kliničku primjenu. Ovi rezultati objašnjavaju zbog čega se u slučaju sumnje na patološko stanje koje prekida kraniospinalnu komunikaciju bolesnicima ne smiju IV primjenjivati hiperosmolarne otopine.

Ključne riječi: intrakranijska hipertenzija, mejerenje intraktranijskog tlaka, mjerenje intrtaiokularnog tlaka, širina perioptičkog prostora, cervikalna stenoza, hiperosmolarna otopina manitola, svinja

THE EFFECT OF INTRACRANIAL PRESSURE CHANGES ON INTRAOCULAR PRESSURE AND OPTIC NERVE SHEATH DIAMETER IN A PORCINE MODEL OF INTRACRANIAL HYPERTENSION

Measurement of intracranial pressure (ICP) is essential for the treatment of severe neurological diseases such as traumatic brain injury, intracranial hemorrhage and chronic diseases such as idiopathic intracranial hypertension. Intracranial hypertension (ICH) or increased cerebrospinal fluid pressure is defined as an increase in intracranial pressure above 15 mmHg and occurs in approximately 50 % of patients with traumatic brain injury. The exact pathophysiologic mechanisms underlying the development of intracranial hypertension remain poorly understood, making ICH a major clinical challenge. ICH, defined as an increase in pressure above 20 mmHg, can be caused by a variety of causes that lead to an increase in volume of one or more components of the skull. Causes of ICH include traumatic brain injury, brain tumors, vascular insults, and others. These processes increase the volume within the rigid skull, resulting in compression of the cerebrospinal fluid spaces and disruption of intracranial blood volume regulation. This leads to secondary brain injury and ischemia of the brain tissue itself. Current methods for measuring ICP, such as external ventricular drainage, parenchymal monitoring or lumbar puncture, are invasive and require trained medical personnel and specialized clinical environments, such as hospitals or clinics. In addition, these methods carry an increased risk of serious complications, including chronic pain, infection and neurological damage. Therefore, there is an urgent need for the development of non-invasive clinical methods to assess ICP.

Ultrasonography of the eye (US), in which the diameter of the optic nerve sheath (ONSD) is measured, shows potential as a non-invasive indirect method for determining intracranial pressure. The ONSD is measured 3 mm behind the posterior margin of the eyeball, where the optic nerve appears on ultrasound as a clear, uniform hypoechoic structure and the optic nerve sheath can be seen as thin bilateral hyperechoic lines. Each eye should be measured from different angles and the average value is determined. In patients with non-traumatic intracranial hypertension, ONSD has been found to correlate with increased ICP. This could be detected with high sensitivity and specificity when ICP increased by 5 mmHg, and increases in

ICP of up to 15 mmHg could be consistently detected. Studies by Liu et al (2017) have shown that the sensitivity of ultrasound measurement of ONSD in detecting ICP is over 90 %. In addition, ultrasound is a quick and straightforward diagnostic method that can be performed repeatedly. However, the use of ONSD measurements for monitoring ICP remains controversial. There are differing opinions on how ultrasound should be performed, and the values measured by ultrasound on different sections vary considerably and are poorly reproducible. In addition, different probes can give inconsistent results for the ONSD.

The use of the eye as a window to changes in the brain is rapidly increasing in research. The results of these studies contribute to the understanding of the effects of neurological diseases on vision and explore the potential of eye-based tests to detect or monitor systemic diseases. In addition, the eye is the only part of the body where both neurons and blood vessels can be directly observed. The cranial subarachnoid space is connected to the optic nerve subarachnoid space (ONSAS). The optic nerve, an extension of the telencephalon, is surrounded by cerebrospinal fluid. The ONSAS serves as a microenvironment for the optic nerve. This space is not empty, but is filled with a complex network of trabeculae and septa covered by meningothelial cells. The optic nerve enters the intracranial space through the optic canal, and the connection between the ONSAS and the intracranial subarachnoid space ends at the optic disc, more precisely at the lamina cribrosa. This connective tissue structure is considered a barrier that prevents CSF pressure from affecting the intraocular space. Anterior to the lamina cribrosa, the intraocular pressure (IOP) acts within the eye, while posteriorly the optic nerve is surrounded by CSF in the retrobulbar region. This pressure gradient, which results from the differences in IOP and retrobulbar pressure, is referred to as the translaminar pressure gradient (TLG).

Given the crucial role of the CSF, it is not surprising that disturbances in its dynamics are associated with various diseases of the central nervous system, such as idiopathic intracranial hypertension, papilledema, hydrocephalus, normal tension glaucoma (NTG) and possibly congenital glaucoma. Detailed studies of CSF dynamics in ONSAS could contribute to a better understanding of these diseases and provide insights into spaceflight-associated neuro-ocular syndromes (SANS). Intracranial pressure (ICP) or CSF pressure is defined as the pressure within the craniospinal space and is an essential physiological parameter reflecting the biomechanical state of the brain. The ICP is created by the interaction of the brain, cerebrospinal fluid and cerebral blood. The brain parenchyma makes up 80% of the intracranial content and contains between 75 and 80% water. Under physiological conditions, the intracranial pressure is stable and constant and depends on the volumes of blood, cerebrospinal fluid and brain tissue in the skull. The Monro-Kellie hypothesis describes these dynamic relationships within the skull. Since brain volume is constant, the two main factors influencing ICP are cerebral blood flow and the balance between the volume of CSF production and the system's resistance to its reabsorption. A disturbance of one of these volumes (e.g. intracranial haemorrhage, tumours) in conjunction with a loss of compensatory mechanisms leads to the development of intracranial hypertension (ICH). There are conflicting data in the literature on the correlation between ICP and IOP. One possible reason for this discrepancy is the different methods used to measure these pressures. While IOP can be measured non-invasively, ICP is only measured invasively. Previous studies, such as that of Klarica et al. (2016), conducted on animal models where both IOP and ICP were measured using the same invasive technique (with calibration to the same hydrostatic point), showed no correlation between these pressures with changes in position. The aim of this study was to determine whether experimental craniospinal obstruction surgically induced in an animal model reduces the compensatory role of the intradural space of the spine. In addition, to investigate whether ultrasound measurements of the optic nerve and its sheath could detect changes in the optic nerve sheath that might reflect acute ICP changes under conditions of obstruction.

To investigate the possible relationship between changes in intraocular pressure and intraocular pressure, we developed a new model of intracranial hypertension (ICH) in pigs (n=6). Under general anaesthesia, we performed three surgical procedures on each animal. The first procedure consisted of a craniotomy (7 mm lateral and 10 mm posterior to the bregma) through which a measuring cannula was inserted into the left lateral ventricle of the brain. The second procedure involved a craniotomy on the contralateral side (using the same coordinates) through which a Foley catheter was inserted parietally epidurally. With this catheter, an ICH was induced by inflating a balloon (3 ml saline, manually administered over 2 minutes). Finally, a dorsal cervical laminectomy was performed at the level of the 2nd cervical vertebra to place a surgical suture epidurally around the spinal cord, and a craniospinal obstruction was created by tightening the suture (interrupting the flow of CSF from the skull to the spinal canal). Intraocular pressure was measured both invasively (using a cannula) and non-invasively (using the TonoVet technique). In addition, ocular parameters (AGL, 1-POS, 1-Vitreus) and perioptic structures (d-ON, d-ONS, PNS) were measured with ultrasound in different experimental phases, including the control phase, phases of ICP elevation, induced cervical stenosis

(interruption of craniospinal communication) and after intravenous (IV) administration of a 10 % hyperosmolar mannitol solution (1 g/kg over 15 minutes). The experiment was divided into three phases. The first phase was the control phase, in which we observed the effect of mannitol on CSF dynamics and its effects on intraocular pressure and ultrasound measurements. In the second phase, we observed the effect of mannitol on ICH and free craniospinal communication. Finally, in the third phase, cerebrospinal obstruction was induced, which allowed us to simulate a model of ICH with cerebrospinal fluid flow obstruction to gain insight into the effect of mannitol in such a condition. At the end of the experiment, all animals were euthanized. Samples were taken from both eyes for histopathology to detect changes in the optic nerve and its sheath.

In the control phase, intravenous administration of mannitol had typical effects on vital and biochemical parameters, no significant effects on ICP and a slight decrease in IOP. During the ICH phase, ICP was successfully increased in all subjects (from baseline 10.2 ± 2.2 mmHg to 28.8 ± 11.9 mmHg), while IOP showed no significant changes (invasive: 16.4 ± 1.8 mmHg; non-invasive: 15 ± 3.4 mmHg). Administration of mannitol during this phase resulted in a significant decrease in ICP (19.32 ± 5.8 mmHg) without altering IOP, but with notable changes in d-ONS. However, after induction of cervical stenosis and administration of mannitol, ICP paradoxically continued to increase (contrary to the expected effects), while d-ONS remained increased and IOP remained in the physiologic range. Our results show no significant correlation between ICP and IOP changes in this new ICH model, suggesting that IOP measurements may not reliably reflect acute ICP changes However, the observed changes in d-ONS in the different experimental phases indicate that d-ONS correlates relatively well with ICP changes. A statistically significant increase in d-ONS was observed after cervical stenosis, suggesting that the perioptic space partially compensates for the increased ICP.

In translational research, large animal models such as the pig facilitate the application of advanced neuromonitoring techniques due to the similarity of their central nervous system (CNS) to that of humans. These findings shed light on why hyperosmolar solutions should not be administered intravenously in patients with suspected pathologic conditions that impair craniospinal communication. **Keywords:** intracranial hypertension, intracranial pressure measurement, intraocular pressure measurement, perioptic space width, cervical stenosis, hyperosmolar mannitol solution, pig

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA
2.1. Stvaranje i fiziologija cerebrospinalnog likvora
2.1.1. Klasični koncept fiziologije likvora
2.1.2. Bulat- Klarica- Orešković hipoteza4
2.2. Fiziologija cerebrospinalnog likvora u području očnog živca
2.3. Fiziologija intrakranijskog tlaka i cerebrospinalne tekućine10
2.4. Intrakranijska hipertenzija12
2.5. Mjerenje intrakranijskog tlaka14
2.5.1. Invazivne metode mjerenja intrakranijskog tlaka
2.5.2. Neinvazivne metode mjerenja intrakranijskog tlaka17
2.5.2.1. Transbulbarna sonografija kao neinvazivna metoda određivanja intrakranijskog tlaka
2.6. Fiziologija intraokularnog tlaka i očne vodice
2.6.1. Metode mjerenja intraokularnog tlaka
2.7. Manitol i njegov utjecaj na oba tlaka23
2.8. Svinja kao model u translacijskoj medicini25
3. OBRAZLOŽENJE TEME 28
4. MATERIJAL I METODE
4.1. Ex vivo postavljanje i kontrola mjernih kanila
4.2. Eksperimentalne životinje

	4.3. Anestezija i analgezija
	4.4. Ultrazvuk oka i neinvazivno mjerenje očnog tlaka
	4.4.1. Testiranje ponovljivosti ultrazvučne pretrage i pouzdanosti ispitivača37
	4.5. Kirurški zahvati
	4.5.1. Kraniotomija za postavljanje intrakranijske kanile i uvođenje foleyevog katetera
	4.5.2. Cervikalna dorzalna laminektomija
	4.5.3. Postavljanje intraokularne kanile
	4.6. Faze pokusa
	4.6.1. Faza 1: Kontrolna faza
	4.6.2. Faza 2: Intrakranijska hipertenzija
	4.6.3. Faza 3: Cervikalna stenoza
	4.7. Eutanazija i patohistološka pretraga uzoraka
	4.8. Statistička obrada podataka
5.	REZULTATI
	5.1. Intrakranijski tlak tijekom faza pokusa
	5.2. Intraokularni tlak tijekom pojedinih faza pokusa
	5.3. Usporedba intrakranijskog te invazivno i neinvazivno mjerenog intraokularnog tlaka tijekom faza pokusa
	5.4. Promjene promjera očnog živca i njegove ovojnice tijekom faza pokusa61
	5.4.1. Promjene promjera očnog živca61
	5.4.2. Promjene promjera ovojnice očnog živca63

10.	ŽIVOTOPIS	107
	9.3. Popis tablica	106
	9.2 Popis slika	102
	9.1. Popis korištenih kratica	100
9.]	PRILOZI	100
8.	LITERATURA	82
7.	ZAKLJUČCI	80
	6.4. Usporedba vrijednosti IIOT s vrijednostima in vivo oku svinje	78
	6.3. Učinak hiperosmolarne otopine manitola na IKT i IOT TE širinu ovojnice očnog živca	76
	očnog živca i njegove ovojnice	74
	6.2. Ispitivanje učinka intrakranijskog tlaka na promjene morfoloških karakteristika	
	6.1. Pokusni model za brzi porast tlaka likvora u svinja	73
6.	RASPRAVA	71
	5.5.3. Promjene dubine vitreusa (L- VITR) tijekom faza pokusa	69
	5.5.2. Promjena dubine očne sobice (POS)	68
	5.5.1. Promjene podužne osi očne jabučice (AGL)	66
	5.5. Promjene ostalih ultrazvučnih varijabli tijekom faza pokusa	66
	5.4.3. Histopatološka analiza bulbusa i očnog živca	64

1. UVOD

Mjerenje intrakranijskog tlaka (IKT) ključno je u liječenju teških neuroloških stanja poput traumatske ozljede mozga, intrakranijskog krvarenja, kao i kroničnih bolesti poput idiopatske intrakranijske hipertenzije (KEDAR i ostali 2022.; NAKAGAWA i SMITH 2011.). Intrakranijska hipertenzija (IKH) ili povišeni tlak likvora definirana je kao porast IKT-a preko 15 mmHg, a razvija se u otprilike 50 % pacijenata s traumatskom ozljedom mozga (ANDRADE i sur., 2009.). Točni patofiziološki mehanizmi razvoja intrakranijske hipertenzije nisu dovoljno razjašnjenji i zbog toga IKH predstavlja težak klinički problem.

Trenutne metode mjerenja IKT-a, poput vanjske ventrikularne drenaže, parenhimskog monitoringa ili lumbalne punkcije su invazivne i zahtijevaju obučeno medicinsko osoblje i specijalizirane kliničke uvjete, poput bolnica ili klinika (LOVRENCIC-HUZJAN i sur., 2017.; PARAMORE i TURNER, 1994.). Uz to, povećan je rizik od ozbiljnih komplikacija, poput kronične boli, infekcija i neuroloških oštećenja (RICKERT i SINSON 2003.; TAVAKOLI i sur., 2017.). Zbog toga postoji hitna potreba za razvojem neinvazivnih kliničkih metoda za procjenu IKT-a.

Orbitalni dio očnog živca okružen je cerebrospinalnom tekućinom unutar intrakranijskog subarahnoidnog prostora (MIRRA i sur., 2020.). Između subarahnoidnog prostora koji obavija vidni živac u retrobulbarnom prostoru i očne jabučice postoji vezivna struktura koju neki autori smatraju preprekom koja ne dopušta utjecaj tlaka cerebrospinalne tekućine na očnu jabučicu (HAYREH, 1964.; KUZMAN i sur., 2012.). Lamina cribrosa (LC) je trabekularna struktura od nekoliko slojeva kroz koju prolaze vlakna optičkog živca i nastavak je unutrašnjeg sloja bjeloočnice koja predstavlja barijeru između intraokularnog prostora s višim tlakom i retrobulbarnog prostora s nižim tlakom (BURGOYNE i sur., 2005.; JONAS, 2003.). LC odvaja očnu jabučicu s tlakom koji se stvara unutar nje (IOT) od retrolaminarnog subarahnoidnog prostora i IKT-a. S obzirom da je subarahnoidni prostor očnog živca nastavak subarahnoidnog prostora koji okružuje mozak i leđnu moždinu, pretpostavlja se da IKT djeluje sve do posteriornog dijela LC-a (JÓHANNESSON i sur., 2018.).

Upravo zbog ovih anatomskih i fizioloških odnosa između intrakranijskog i intraokularnog prostora čine optički živac i njegovu ovojnicu idealnim strukturama za proučavanje i moguću detekciju akutnih promjena IKT-a (JONAS i sur., 2003.).

Ultrazvučna pretraga oka (UZV), kojom se određuje širina ovojnice optičkog živca (ONS), pokazuje potencijal kao neinvazivna indirektna metoda određivanja intrakranijskog tlaka. Kod pacijenata sa netraumatskom intrakranijskom hipertenzijom, ONS bio povezan s povišenim IKT-om (AMINI i sur., 2013.). To se s visokom osjetljivošću i specifičnošću moglo detektirati kada je IKT povećan za 5 mmHg, a povećan IKT do 15 mmHg se mogao detektirati stalno. Istraživanje LIU i sur., 2017. je pokazalo da je osjetljivost UZV mjerenja ONS i određivanja IKT viša od 90 %, a uz to je UZV brza i jednostavna dijagnostička metoda koja se može stalno izvoditi. Iako se mjerenja ONS za praćenje IKT često koriste, njegova je primjena još uvijek kontroverzna. Osim što postoje različita mišljenja o načinu izvođenja ultrazvučnog pregleda, vrijednosti izmjerene ultrazvučnim pregledom na različitim presjecima jako variraju, a ponovljivost pretrage je loša. Štoviše, drugačije sonde će također napraviti razliku u prikazu ONS (LI i WAN, 2021.).

U literaturi postoje kontradiktorni podaci o korelaciji IKT i IOT. Jedan od mogućih razloga je i različita metodologija mjerenja tih tlakova. Naime, IOT se može mjeriti neinvazivno kao što smo to ranije naveli dok se IKT mjeri samo invazivno. U ranijim istraživanjima KLARICA i sur., 2016. provedenim na životinjskim modelima u kojima je IOT i IKT mjeren istom invazivnom tehnikom (uz baždarenje uređaja za mjerenje na istu hidrostatsku točku) uočeno je da pri promjeni položaja tijela kod kojih dolazi do promjena IOT i IKT ne postoji povezanost između tih dvaju tlakova.

U ovom istraživanju željeli smo utvrditi hoće li eksperimentalno izazivanje kraniocervikalne opstrukcije koje se kontrolirano operacijski izvodi na životinjskom modelu, smanjiti kompenzacijsku ulogu spinalnog intraduralnog prostora te mogu li se ultrazvučnom pretragom i mjerenjem promjera očnog živca i njegove ovojnice detektirati promjene u području ovojnice očnog živca koja bi u trenu opstrukcije trebala doživjeti veće promjene kao i mogu li se detektirati akutne promjene intrakranijskog tlaka.

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Stvaranje i fiziologija cerebrospinalnog likvora

Klasične teorije o proizvodnji i protoku cerebrospinalnog likvora (CSL) podučavaju se tijekom medicinskog obrazovanja dugi niz godina. Teorija da CSL proizvodi i/ili filtrira koroidni splet te da se kreće u jednom smjeru kroz ventrikularni sustav dugo je bila široko prihvaćena. Međutim, suvremena istraživanja dovođe u pitanje valjanost ove hipoteze, sugerirajući da se CSL ne kreće jednosmjerno, već da je njegov tok vođen kontrakcijama mikrovaskularnog sustava u ritmičnom pokretu naprijed-natrag unutar cerebrospinalnog sustava.

2.1.1. Klasični koncept fiziologije likvora

Klasični koncept stvaranja i cirkulacije CSL-a poznat je kao "Weed-Dandy-Cushing hipoteza", a formuliran je prije više od 100 godina i (CUSHING, 1914.; WEED, 1914a.; DANDY, 1919.). CSL se prema ovoj teoriji kreće jednosmjerno, poput "treće cirkulacije", od mjesta lučenja do apsorpcije (CUSHING, 1914.; MILHORAT, 1975.). Klasična se hipoteza fiziologije likvora temelji na tri osnovna principa:

(1) aktivno lučenje likvora iz koroidnih spletova moždanih komora,

(2) pasivna apsorpcija putem arahnoidnih resica u duralni venski sustav te

(3) jednosmjerna cirkulacija od mjesta lučenja do mjesta apsorpcije.

Prema klasičnoj hipotezi, ne postoji sumnja da je koroidni splet glavno mjesto stvaranja CSL-a i snažna biološka pumpa kojom se CSL isključivo izlučuje (DANIKER i sur., 2013.; SPECTOR i sur., 2015.; OREŠKOVIĆ i sur., 2016.). Druge dvije premise (cirkulacija i apsorpcija CSL-a) zapravo su samo posljedica njegove sekrecije. CSL se dominantno izlučuje u koroidnom spletu (*plexus choroideus*), pri čemu se oko 70% CSL-a stvara aktivnim transportom iona natrija i osmotskim protokom vode, dok ependim pridonosi s 30% (WEED, 1914a.; DAVSON, 1967.; McCOMB, 1983.). Cirkulacija CSL-a kreće iz lateralnih komora kroz Monroeove otvore u treću komoru, zatim kroz Silvijev akvedukt u četvrtu komoru, odakle

se ulijeva u spinalni kanal i subarahnoidni (SA) prostor kroz Magendijev i Luschkine otvore (BRODBELT i STOODLEY, 2007.). Na cirkulaciju CSL-a utječu hidrostatski tlak, pulsacije koroidnog spleta, respiratorni i srčani ciklus te položaj tijela (BERING, 1955.). Resorpcija likvora se smatra pasivnim procesom ovisnim o razlici tlakova između krvi i likvora, odnosno razlici tlaka likvora u subarahnoidnom prostoru i tlaka krvi u venskim sinusima, a smatra se i da je odnos tlaka CSL-a i brzine njegove apsorpcije linearan (RUBIN i sur., 1966., CUTLER i sur., 1968.). Navedeni koncepti na kojima počiva klasična hipoteza o stvaranju i cirkulaciji CSL-a potječu uglavnom iz povijesnih pokusa koje je na psu proveo Dandy. Naime, ako analiziramo eksperiment Dandyja, uočavamo da je nakon jednostrane pleksusektomije koroidnog spleta i opstrukcije Monroeovih otvora obje lateralne moždane komore, komora koja je sadržavala koroidni pleksus bila proširena, dok je ona bez pleksua bila kolabirana (OREŠKOVIĆ i sur., 2016.). To je znači da je koroidni pleksus glavno mjesto sekrecije CSLa, a proširena komora smatrana je jasnim dokazom da apsorpcija CSL-a ne postoji unutar moždanih komora. U moždanim komorama bez pleksusa (biološke pumpe) komora je bila kolabirana jer CSL nije bio izlučen, što je neizbježno rezultiralo izostankom cirkulacije i apsorpcije CSL-a. Stoga su cirkulacija i apsorpcija CSL-a u likvornom sustavu samo posljedica aktivne i stalne sekrecije CSL-a u moždanim komorama putem CP-a kao snažnih bioloških pumpi (OREŠKOVIĆ i sur., 2016.).

Ova hipoteza korištena je za objašnjenje ne samo fizioloških, već i patofizioloških stanja koja uključuju CSL u središnjem živčanom sustavu (SŽS) te je predstavljena kao dokazana činjenica u svim udžbenicima, atlasima i člancima.

2.1.2. Bulat- Klarica- Orešković hipoteza

Iako je klasični model bio široko prihvaćen od njegove objave početkom 1900-ih, tijekom godina provedeno je nekoliko značajnih studija koje su postupno doprinosile razvoju suvremene hipoteze. Bulat i sur. (1993.) opisali su multidirekcijski tok CSL-a na temelju mehanike fluida u mikrovaskulaturi središnjeg živčanog sustava (SŽS) (BULAT i sur., 1993.). Ova hipoteza sugerira da pulsacije cerebralnih mikrovaskularnih struktura pokreću izmjenu tekućine između CSL-a i intersticija. Štoviše, tvrdi da koroidni splet ne proizvodi CSL u značajnoj količini, već da se on može stvarati bilo gdje unutar cerebrospinalnog sustava (BULAT i sur. 1993; OREŠKOVIĆ i KLARICA, 2010.;

OREŠKOVIĆ i KLARICA, 2015.). Komponente CSL-a mogu čak dospjeti u sistemsku cirkulaciju, što upućuje na mehanizam ravnoteže na razini cijelog tijela. Ovaj model naziva se hipoteza Bulat-Klarica-Orešković i predstavlja suvremeno objašnjenje fiziologije CSL-a. Izmjena između intersticija i CSL-a omogućuje uklanjanje cerebralnih otpadnih proteina i služi kao moždani ekvivalent limfnog sustava.

S obzirom da je CSL sačinjen uglavnom od vode (99%), sve više znanstvenika se suprotstavlja klasičnom shvaćanju fiziologije CSL-a podupirući moderni koncept koji je zasnovan na činjenici da se u istraživanjima njegove dinamike treba prije svega pratiti dinamiku vode u SŽS-u (BULAT i sur., 2008.; OREŠKOVIĆ i KLARICA, 2010.). Prema novom konceptu, CSL se stalno stvara filtracijom vode kroz stijenku arterijskih kapilara, te se stalno apsorbira kroz stijenku venskih kapilara i postkapilarnih venula. Utjecajem hidrostatskih i osmotskih sila između CSL-a i kapilara smještenih ne samo u koroidnom spletu, nego i unutar moždanog i spinalnog tkiva osigurava odvijanje ovog procesa, slično kao što su regulirani volumeni tekućine u drugim organima. Gubitak ravnoteže među navedenih sila trebao bi dovesti do promjene volumena likvora, a pri većoj neravnoteži i do promjene intrakranijskog tlaka (OREŠKOVIĆ i KLARICA, 2010.; BULAT i KLARICA, 2011.; OREŠKOVIĆ i KLARICA, 2011.).

Ova hipoteza značajno odstupa od klasičnog modela koji su predložili Weed-Dandy-Cushing (BULAT i sur., 1993.; JESSEN i sur., 2015.; ATCHELY i sur., 2022.). Razumijevanje fiziologije CSL-a ključno je za upravljanje poremećajima SŽS-a. Model Bulat-Klarica-Orešković otvara mogućnost novih pristupa bolestima koje uključuju CSL. Hidrocefalus je ilustrativan primjer neslaganja između klasičnog i suvremenog modela. Definira se kao nakupljanje CSL-a koje uzrokuje širenje moždanih ventrikula. Liječi se prema klasičnom modelu, no eksperimenti koji su doveli do razvoja suvremene hipoteze ukazuju na mogućnost da je uspješnost nekih zahvata možda tek slučajna (BULAT i sur., 2008.; LEINONEN i sur., 2017.). Ako dođe do nakupljanja CSL-a i posljedičnog širenja ventrikula, klasična teorija sugerira da postoji samo jedan način drenaže CSL-a kroz ventrikularni sustav. Suvremena razmišljanja mogla bi sugerirati da akutne promjene u volumenu ili tlaku CSL-a također utječu na okolne kapilare. Jedna teorija pretpostavlja da promjene u impedanciji uzrokuju ubrzanje vaskularnih pulsacija i njihovo premještanje bliže središtu, što dovodi do inverzije protoka CSL-a i posljedičnog povećanja ventrikula, što je karakteristično za hidrocefalus (CASTRO i sur., 1991.; LONGATTI, 2018.).

Kao autori brojnih radova i opsežnih istraživanja u području cerebralne biokemije i patofiziologije, Bulat i suradnici (1993.) su postavili hipotezu koja je bila u skladu s rezultatima mnogih prethodno spomenutih eksperimenata da CSL ne teče jednosmjerno, već putuje perikapilarnim mehanizmima u dvosmjernom kretanju (BULAT i sur., 1993.; BAJDA i sur., 2023.). Ovo je predstavljalo značajno odstupanje od tradicionalnog objašnjenja i zahtijevalo je godine eksperimentiranja kako bi se prikupili empirijski dokazi koji podupiru ovu hipotezu. Godine 2008., Bulat i njegovi kolege Lupret, Orešković i Klarica dodatno su pojasnili ovu hipotezu, sugerirajući da se izmjena makromolekula odvija u dvosmjernom pravcu između intersticija i perivaskularnih prostora (OREŠKOVIĆ i KLARICA, 2010.; BULAT i KLARICA, 2011.). Nadalje, pretpostavili su da se izvanstanična tekućina, uglavnom voda, prenosi cerebralnim mikrožilama pomoću sistoličko-dijastoličkih pulsacija (BULAT i sur., 2008.). Nakon ovog eksperimenta, 2010. godine objavljena su dva istraživanja koja su osporavali staru hipotezu i pružali nove uvide u hidrodinamiku cerebrospinalne tekućine (CSL) (OREŠKOVIĆ i KLARICA, 2010.; BULAT i KLARICA, 2011.). Ovi radovi opisali su kontradikcije s kojima se model Dandy-Weed-Cushing sada suočava kroz eksperimentalne dokaze. Autori su tvrdili da CSL putuje multidimenzionalno koristeći veću površinu duž perikapilarnog prostora. Pulsacije iz periventrikularnih kapilara pokreću tekućinu u dvosmjernom "naprijed – natrag" kretanju, omogućujući izmjenu CSL-a i intersticijske tekućine prije nego što se konačno odlije u venske sinuse (KLARICA i sur., 2014.; YAMADA, 2014.). Temeljni fiziološki uvjeti unutar svakog CSL odjeljka, uključujući promjene intrakranijskog tlaka utječu na ovu izmjenu tekućine. Nadalje, pozivajući se na prethodne eksperimente, autori su tvrdili da većina CSL-a nije proizvedena u horoidnom pleksusu, već se proizvodi i apsorbira kroz cijeli CSL sustav (OREŠKOVIĆ i KLARICA, 2010.; BULAT i KLARICA, 2011.).

Moderna istraživanja hidrodinamike mozga uključuju primjenu magnetske rezonance s pomakom (*time-slip MRI*) snimanja za brže praćenje promjena CSL-a unutar cerebralnih prostora. Istraživanja koja su proveli Yamada i sur. (2021.)., Takeuchi i sur. (2017.), Shibukawa i sur. (2018.) i nekoliko drugih istraživača koristile su ovu tehnologiju kako bi bolje razumjele cerebralnu patofiziologiju. Jedna od prednosti ove metode je što omogućuje korištenje samog CSL-a kao tragača, umjesto oslanjanja na radioaktivno označene tragače, čime se čuva prirodna fiziologija. Ključni zaključak ovih istraživanja je da CSL ne putuje jednosmjerno, već pulsira "naprijed-natrag", krećući se kranijalno tijekom dijastole i kaudalno tijekom sistole (TAKEUCHI i sur., 2017.; SHIBUKAWA i sur. 2018.; YAMADA i sur., 2021.), što je teorija Bulat-Klarica-Orešković predvidjela godinama ranije. Ipak, svaka od ovih studija ukazuje na razvojno razumijevanje patofiziologije CSL-a koje nadilazi model klasične teorije, prema kojem horoidni pleksus dominira u njegovoj proizvodnji i dinamici.

2.2. Fiziologija cerebrospinalnog likvora u području očnog živca

CSL je bezbojna tekućina koja okružuje središnji živčani sustav kako bi pružila dostavu hranjivih tvari te omogućila uklanjanje metaboličkog otpada (KAPOOR i sur., 2008.; MATHIEU i sur., 2017.). CSL se prvenstveno sastoji od vode (99 %) i ispunjava subarahnoidne prostore, perivaskularne prostore te moždane komore unutar središnjeg živčanog sustava, uključujući prostore u mozgu, kralježnici i očnom živcu (ON) KHASAWNEH i sur., 2018.; SHENG i sur., 2022.). Cerebrospinalna tekućina ispunjava subarahnoidni prostor optičkog živca (ONSAS), koji okružuje retrolaminarni dio optičkog živca iza oka i završava kod bjeloočnice. Morfološki, subarahnoidni prostor optičkog živca je struktura u obliku slijepe ulice. Kako bi se omogućila razmjena CSL-a između intrakranijske šupljine i subarahnoidnog prostora optičkog živca, likvor mora izaći iz tog prostora istim putem kojim ulazi (KILLER i sur., 2011.). Postoje brojna istraživanja i pretpostavke o kretanju likvora u tom području, no nažalost, detaljne informacije o cirkulacijskim obrascima likvora u području optičkog živca još uvijek nisu poznate (RENNELS i sur., 1985).

CSL se primarno proizvodi u *plexus choroideus* mozga te se dalje distribuira kroz ventrikule i oko neuronskog tkiva (JONAS i sur., 2003.). Drenaža likvora kroz duralne limfne žile i arahnoidne granulacije u venski sustav uravnotežuje njegovu proizvodnju i smatra se da održava tlak u subarahnoidnom prostoru optičkog živca pod kontrolom (KAPOOR i sur., 2008.; MATHIEU i sur., 2017.). Kranijski subarahnoidni prostor povezan je sa subarahnoidnim prostorom optičkog živca (ON). Optički živac je produžetak telencefalona i poput mozga, okružen je cerebrospinalnom tekućinom. Subarahnoidni prostor optičkog živca (ONSAS) čini

mikrookoliš za optički živac. Taj prostor nije prazan, već je ispunjen složenom mrežom trabekula i septa, koji su prekriveni slojevima meningotelnih stanica.

Očni živac ulazi u intrakranijski prostor kroz optički kanal (Slika1.). Duljina očnog živca varira, a kreće se od 42-47 mm (HAYREH, 2011.). Strukturalno ga možemo podijeliti u 4 dijela (KILLER i sur., 2007.):

- 1. Intraokularni dio
- 2. Intraorbitalni dio
- 3. Intrakanalikularni dio
- 4. Intrakranijski dio

Intraorbitalni dio optičkog živca obavijen je moždanim ovojnicama koje se sastoje od tri sloja: *dura, arahnoidna* i *pia mater*. U ovom dijelu optički živac ima blago S-oblik (SALAZAR i sur., 2019.). Širina subarahnoidnog prostora u ovom dijelu postaje uža od retrobulbarnog dijela prema intrakanalikularnom dijelu. Promjer ovog dijela živca varira od $5.17 \pm 1.34 - 3.55 \pm 0.82$ mm u ljudi i može se koristiti za procjenu tlaka cerebrospinalne tekućine (KILLER i sur., 2011.; SHENG i sur., 2022.).

Subarahnoidni prostor optičkog živca, parcijalno je povezan sa subarahnoidnim intrakranijskim prostorom, a povezanost završava kod spoja živca s bulbusom. Upravo na tom području spoja se nalazi *lamina cribrosa*, vezivnotkivna struktura za koju mnogi autori smatraju preprekom koja ne dopušta utjecaj tlaka cerebrospinalne tekućine na očnu jabučicu (WOSTYN i sur., 2016.). Antriorno od lamine cribrose unutar intraokularnog prostora djeluje intraokularni tlak. Posteriorno, orbitalni dio očnog živca okružen je cerebrospinalnom tekućinom unutar intrakranijskog subarahnoidnog prostora. Dakle, ona odvaja očnu jabučicu s višim tlakom od retrobulbarnog prostora s nižim tlakom i na tom području se radi razlike tlakova stvara translaminarni gradijent (TLG) (BALARATNASINGAM i sur., 2009.).



Izvor: biorender.com

Slika 1. Shematski prikaz očnog živca anatomske povezanosti oka i mozga te ovojnica te djelovanja tlakova na laminu cribrosu i područje TLG-a. (Modificiraano prema: SHENG i sur., 2022.)

Zbog gradijenta volumena između intrakranijalnog prostora i subarahnoidnog prostora optičkog živca, očekuje se da će protok cerebrospinalne tekućine (likvora) u većini slučajeva biti jednosmjeran iz intrakranijalnog prostora prema optičkom živcu (LIU i sur., 2021.; SHENG i sur., 2022.). Međutim, likvor može teći natrag u intrakranijski prostor ako je pritisak u subarahnoidnom prostoru optičkog živca viši nego u intrakranijskom prostoru. Prema istraživanju GOLZAN i sur. (2012.), pulsacija likvora odgovara arterijskom protoku u optičkom živcu, dok se refleksni protok likvora, koji se odnosi na povratni tok likvora iz *lamina cribrosa,* poklapa s venskim protokom. Ovaj fenomen sugerira da pulsacije krvnog protoka predstavljaju pokretačku silu za protok likvora u optičkom živcu. MORGAN i sur. (1998.) otkrili su da tlak u retrolaminarnoj regiji nije uvijek u odnosu s intrakranijskim tlakom likvora, tj. protok likvora u optičkom živcu nije uvijek povezan s arterijskim pulsom. Ova saznanja

upućuju na to da likvor u optičkom živcu vjerojatno ima jedinstvenu pokretačku silu za svoj protok, neovisnu o krvotoku u intrakranijskom prostoru (BOYE i sur., 2018.).

S obzirom na tako važnu ulogu likvora, nije iznenađujuće da je poremećaj njegove dinamike povezan s nizom bolesti središnjeg živčanog sustava, kako u mozgu tako i u optičkom živcu, poput idiopatske intrakranijske hipertenzije, papilledema, hidrocefalusa, glaukoma normalnog tlaka (*engl. normal tension glaucoma*, NTG) i moguće kongenitalnog glaukoma (SIMON, 2016.; PIRCHER i sur., 2018.). Detaljne informacije o dinamici likvora u ONSAS-u mogu doprinijeti boljem razumijevanju ovih bolesti kao i razumijevanju sindroma neurookularnih poremećaja povezanih sa svemirskim letovima (SANS) (SIMON, 2016.; BOTHWELL i sur., 2019.; WANG i sur., 2023.).

2.3. Fiziologija intrakranijskog tlaka i cerebrospinalne tekućine

Intrakranijski tlak (IKT) ili tlak cerebrospinalnog likvora definiran je kao tlak unutar kraniospinalnog prostora i važan je fiziološki parametar koji odražava biomehaničko stanje mozga (CZOSNYKA i PICKARD, 2004.; LIU i sur., 2023.). IKT je rezultat interakcije između mozga, cerebrospinalne tekućine (likvora) i cerebralne krvi. Moždani parenhim čini 80 % intrakranijalnog sadržaja i sadrži između 75 % i 80 % vode. Voda se nalazi i u unutarstaničnom prostoru (bijela i siva tvar) te u izvanstaničnom prostoru (intersticijski prostor) (LIU i sur., 2023.). Cerebrospinalna tekućina (CSF) se proizvodi u plexus choroideus ventrikula mozga te čini približno 10 % volumena unutar lubanje (intrakranijalnog volumena). Kod različitih stanja (upale, povišenje IKT), produkcija likvora može varirati. IKT se također mijenja ovisno o položaju (KLARICA i sur., 1997.) te je promjenjiv ovisno o sistemskom arterijskom tlaku i disanju kao i o povišenju intrabadominalnog tlaka (npr. kašalj, defeciranje) (RODRIGUEZ-BOTO i sur., 2012.). IKT fiziološki varira, a u prosjeku ga treba održavati u relativno uskom rasponu. Kod odraslih se kreće između 7 i 15 mmHg (SMITH, 2008; TADEVOSYAN i KORNBLUTH, 2021.). Prema objavljenim smjernicama, u neurointenzivnoj skrbi za traumatsku ozljedu mozga (TBI) i druge oblike akutne ozljede mozga preporučuje se održavati vrijednosti IKT ispod 20-25 mm Hg (BRATTON i sur., 2007; MORGENSTERN i sur., 2010.).



Slika 2. Shematski prikaz odnosa intrakranijskog tlaka i volumena unutar lubanje sa i bez kompenzacije. Točka A označava početno područje gdje je tlak nizak i stabilan unatoč povećanju volumena. Točka B prikazuje nagli porast IKT-a pri daljnjem povećanju volumena, kada kompenzacijski mehanizmi popuštaju. Delta P1 (ΔP1) i Delta P2 (ΔP2) prikazuju oscilacije tlaka u različitim dijelovima krivulje, pri čemu ΔP2 ukazuje na osjetljiviji odgovor tlaka na promjene volumena. (modificirano prema: CANAC i sur., 2020.)

U fiziološkim uvjetima, IKT je stabilan i pravilan, a ovisi o tri volumena koji ispunjavaju kranij: volumenu krvi, likvora i mozga (MONRO, 1783.; KELLIE, 1824.). Danas poznata kao "Monro-Kellie hipoteza" opisuje dinamiku i odnose unutar lubanje. S obzirom da je volumen mozga stalan, dva najvažnija čimbenika koja utječu na IKT su cerebralni protok krvi te ravnoteža između volumena proizvodnje cerebrospinalne tekućine (likvora) i otpornosti sustava na njegovu resorpciju (CANAC i sur., 2020.) (Slika 2.). Narušavanje bilo kojeg od ovih

volumena (npr. intrakranijsko krvarenje, tumori) uz gubitak kompenzacijskih mehanizama, dovest će do razvoja intrakranijske hipertenzije (IKH).

2.4. Intrakranijska hipertenzija

Intrakranijska hipertenzija (IKH) ili povišeni tlak likvora definirana je kao porast tlaka iznad 20 mmHg. Razvija se u otprilike 50 % pacijenata s traumatskom ozljedom mozga (ANDRADE i sur., 2009.). IKH može biti uzrokovana različitim stanjima kod koje dovode do povećanja volumena jedne ili više komponenti unutar kranija (CZOSNYKA i PICKARD, 2004.). Uzroci koji mogu dovesti do IKH su traumatska ozljeda mozga, tumori mozga, vaskularni inzult i dr. Najčešći uzroci s obzirom na mehanizam njihovog nastanka prikazani su u Tablici 1. Navedeni procesi različitim mehanizmima dovode do povećanja volumena u rigidnom kraniju te posljedičnog sužavanja likvorskih prostora te poremećaje intrakranijskog volumena krvi. Rezultat toga su sekundarne ozljede mozga te ishemija samog moždanog tkiva (SCHIZODIMOS i sur., 2020.).

Tablica 1. Prikaz najčešćih uzroka i patofiziologije nastanka intrakranijske hipertenzije. Modificirano prema: FREEMAN, 2015., PINTO i sur., 2022.

Uzroci povišenja intrakranijskog tlaka	Patofiziologija
Traumatska ozljeda mozga	fokalni cerebralni edem, intrakranijsko krva- renje ili kontuzije s masovnim učinkom
Veliki ishemijski moždani udar (npr. okluzija unutarnje karotidne arterije ili srednje cerebralne arterije)	citotoksični cerebralni edema s masovnim učinkom
Intrakranijska krvarenja	Masovni učinak unutar zatvorene intra- kranijalne šupljine (npr. subduralni he- matom)
Hidrocefalus	opstruktivnim (masovni učinak ili lezije koje ometaju glavne CSF putove ili dre-nažu)
Difuzni cerebralni edem	encefalitis/meningitis ili meningitis uzro- kovan vazogenim ili drugim oblicima cere- bralnog edema
Opstrukcija jugularne vene ili povišeni desni srčani venski tlak	Tromboza jugularne vene (vezana uz centralnu liniju ili hiperkoagulabilno sta-nje), sindrom gornje šuplje vene
Neoplazme mozga	Masovni učinak, vazogeni edem
Idiopatski edem	patofiziologija ostaje nerazjašnjena, glavni rizični faktori uključuju pretilost i ženski spol

Postoje kompenzacijski mehanizmi koji omogućuju prilagodbu umjerenim povećanjima volumena putem ekstrudiranja cerebrospinalne tekućine (CSF) ili venske krvi. Međutim, kada se ti mehanizmi iscrpe, intrakranijski tlak će se naglo povećati dok ne postane jednak s tlakom unutar cerebralnih arteriola što dovodi do njihovog urušavanja i prestanka protoka krvi prema mozgu (PARTINGTON i FARMERY, 2014.). IKH direktno dovodi do smanjenja cerebralnog

protoka krvi (*engl. cerebral blood flow*, CBF) što može dovesti do ishemije ili hernijacije koje mogu završiti smrću (MARTIN i sur., 1997.). CBF je definiran odnosom ulaznog tlaka u obliku srednjeg arterijskog tlaka (MAP), intrakranijskog tlaka (IKT) i cerebrovaskularnog otpora (CVR) prema sljedećoj formuli (THOMALE i sur., 2010.; CANAC i sur. 2020.):

$$CBF = (MAP - ICP) / CVR$$

Mehanizmi autoregulacije kod IKH djeluju kako bi održali cerebralni protok krvi stalnim. Najčešće prvotno dolazi do vazodilatacije cerebralnih arteriola kako bi se smanjio CVR (STEINER i sur., 2002., TADEVOSYAN i KORNBLUTH, 2020.). Ukoliko to nije dovoljno za održavanje cerebralnog protoka krvi, tada se povećava i arterijski krvni tlak (YOUMANS, 1996.). Oba mehanizma dovođe do povećanja cerebralnog volumena krvi, a time i do daljnjeg rasta IKT-a.

Promijenjeni IKT može biti posljedica različitih stanja i ovisi o brojnim fiziološkim čimbenicima, uključujući autoregulaciju, elastičnost krvnih žila i srednji arterijski tlak (MAP). Kompleksna ovisnost između ovih različitih komponenti komplicira neinvazivne metode procjene IKT-a koje se oslanjaju na pretpostavke o međusobnim odnosima između tih temeljnih čimbenika (LAASEN, 1974., CANAC i sur. 2020.). Stoga bi bilo idealno da opća metoda mjerenja IKT-a ne ovisi o vrsti patologije te da može uzeti u obzir normalne varijacije hemodinamičkih varijabli od pacijenta do pacijenta.

2.5. Mjerenje intrakranijskog tlaka

Praćenje IKT-a ključno je u svrhu procjene rizika, prognoze i procjene odgovora na terapiju. U medicinsku je zajednicu uvedeno kao nova metoda od strane Guillauma i Jannyja 1951. godine, a zasluge za popularizaciju pripadaju Lundbregu i suradnicima koji su od 1960. godine uveli protokol za sustavno praćenje IKT-a (GUILLAME i JANNY, 1951.; LUNDBERG, 1960.). Tijekom naredna tri desetljeća praćenje IKT-a više koristilo tijekom istraživanja nego u kliničkoj praksi. Praćenje tlaka u neurointenzivnoj skrbi postaje standarna praksa tek 1995. nakon objavljenih smjernica "The Brain Trauma Foundation" (THE BRAIN TRAUMA FOUNDATION, 2000.). Povijest praćenja i mjerenja IKT duga je otprilike 70

godina, no i dalje su prisutne kontroverze u vezi njegovog određivanja te uloga IKT-a kod različitih stanja i dalje izaziva rasprave. Kontroverznost je najviše vidljiva u nedostatku jedinstvenog konsenzusa i velikim razlikama u pristupu među pojedinim kliničkim centrima (CNOSSEN i sur., 2017.; EVENSEN i EIDE, 2020.). Osim toga, klinička istraživanja koja proučavaju IKT su teško usporediva radi različite metodologije mjerenja IKT koje su slabo standardizirane (CHESNUT i sur., 2015.).

2.5.1. Invazivne metode mjerenja intrakranijskog tlaka

Zasluge za invazivno mjerenje IKT-a pripadaju Lundbergu koji je to demonstrirao još davne 1960. godine (LUNDBREG, 1960.; NAG i sur., 2019.) . Od tada su se pojavile razne DSmetode za izravno praćenje IKT-a, a svaka od njih ima svoje specifične nedostatke i poželjne karakteristike. Povećanje broja dostupnih uređaja i tehnologija za praćenje IKT-a dovelo je do potrebe za propisivanjem minimalnih standarda koje takvi uređaji moraju zadovoljiti. Uređaji za mjerenje IKT-a trebali bi (NAG i sur., 2019., EVENSEN i EIDE, 2020.):

- 1. mjeriti IKT u rasponu 0 100 mm Hg
- 2. preciznost bi trebala biti unutar $\pm 2 \text{ mm Hg}$ u rasponu 0 20 mm Hg tlaka
- 3. u rasponu 20 100 mm Hg odstupanja ne bi smjela biti veća od 10 %.

Idealni uređaji za mjerenje IKT-a trebao bi biti jednostavan za upotrebu, točan i pouzdan, reporoducibilan uz minimalne rizike od infekcija i krvarenja.

IKT invazivno se može mjeriti na 3 različita načina: lumbalnom drenažom, vanjskom ventrikularnom drenažom (engl. extraventricular drainage, EVD) ili parenhimski postavljanjem epiduralnih i subduralnih IKT sonda (MURALIDHARAN, 2015.; LIU i sur., 2015.). Načini postavljanja sondi prikazani su na Slici 3. (prilagođeno iz BioRender).



Slika 3. Shematski prikaz mjesta postavljanja sondi za invazivno mjerenje IKT-a. Lokalizacije sondi za mjerenje tlaka: (A) epiduralna; (B) subduralna; (C) parenhimna; (D) intraventrikularna (Modificirano prema: EVENSEN i sur., 2020.)

Vanjska ventrikularna drenaža i intraparenhimalne sonde, dvije su glavne metode koje se smatraju "zlatnim standardom" (LE ROUX i sur., 2014.; BHATIA i GUPTA, 2007.). EVD osim praćenja tlaka, omogućuje i prema potrebi uklanjanje cerebrospinalnog likovora ili aplikaciju lijekova. Obje metode za postavljanje zahtjevaju manji kirurški zahvat što može dovesti do mogućih komplikacija poput krvarenja ili infekcije (TAVAKOLI i sur. 2017.; MÜLLER i sur., 2023.)

Lumbalna punkcija (LP) također se može koristiti za mjerenje IKT-a no treba naglasiti da ova metoda za razliku od drugih invazivnih metoda pruža samo trenutačni prikaz IKT-a što je problem kod stanja koja zahtjevaju kontinuirano mjerenje IKT-a (LENFELDT i sur., 2007.)
U posljednjih nekoliko godina na tržištu su se pojavili implantabilni senzori za praćenje IKT-a, poznati kao telemetrijski senzori. Ovi sustavi omogućuju ugradnju specijaliziranih senzora i omogućuju procjenu prosječnog IKT-a pomoću vanjskog prijemnika (RABOEL i sur., 2012.; MÜLLER i sur., 2019.). Ovaj pristup može biti koristan kod osoba s poremećajem cerebrospinalne tekućine (CSF) te kod pacijenata sa kompleksnim šantovima.

Desetljećima su znanstvenici i liječnici tražili pouzdanu, neinvazivnu metodu za praćenje IKT-a. Mnoge metode su do sada pokazale obećavajuće rezultate, ali potrebna preciznost i pouzdanost mjerenja u usporedbi s invazivnim mjerenjima kao zlatnim standardom još nisu postignute u kliničkoj praksi (BLAND i ALTMAN, 1986.; BERLIN i sur., 2015.). Stoga dosadašnje smjernice i dalje preporučuju invazivna mjerenja.

2.5.2. Neinvazivne metode mjerenja intrakranijskog tlaka

Ideja o neinvazivnoj metodi mjerenja IKT-a ima za cilj izbjeći komplikacije kao što su krvarenje i infekcija te bi u određenim kliničkim scenarijima ili stanjima bolesnika ovakve metode trebale biti pouzdana alternativa (NAG i sur., 2019.). Idealno bi bilo da neinvazivni uređaji budu precizni, jednostavni i pogodni za korištenje te da za njihovo korištenje za razliku od invazivnih postoje minimalne kontraindikacije i ograničenja. Dosada su postajale različite klasifikacije neinvazivnih metoda mjerenja, najčešće prema anatomskog položaju mjerenog sustava (MÜLLER i sur., 2023.). Najčešće metode neinvazivnog mjerenja s obzirom na anatomski položaj mjernog sustava prikazane su u Tablici 2. (modificirano iz (MÜLLER i sur., 2023.).

Tablica 2. Tablični prikaz neinvazivnih metoda mjerenja intrakranijskog tlaka prema anatomskom sustavu korištenom za mjerenje (modificirano prema: MÜLLER i sur., 2023.)

Vaskularne metode	Oftalmološke metode	Otičke metode	Mozak	Glava
Srednja moždana arterija (Doppler)	Retina i papila (OCT, oftalmoskopija)	Bubnjić (pomak, temperatura)	Ventrikuli i subarahnoidni prostor (CT, MRI)	Spontana električna aktivnost (EEG)
Središnja arterija (analiza valnog oblika, Doppler s dvije dubine)	ONSD (sonografija, MRI)	Potencijal mikrofonije pužnice	Dinamika likvora (MRI)	Cijela glava (mikropokreti)
Cirkulacija krvi i likvora (NIRS, dielektrična svojstva)	Vene retine (DVA, fotopletizmografija)	" <i>ear-to-</i> <i>ear"</i> ultrazvuk	Fontanela (pritisak)	Cijeli optički trakt (VEP)
Vene retine (DVA, fotopletizmografija)	Zjenica (pupillometrija)			

2.5.2.1. Transbulbarna sonografija kao neinvazivna metoda određivanja intrakranijskog tlaka

Ultrazvučna pretraga oka (UZV), kojom se određuje širina ovojnice optičkog živca (ONSD), pokazuje potencijal kao neinvazivna indirektna metoda određivanja intrakranijskog tlaka. Izvodi se mjerenjem ONSD-a 3 mm iza ruba očne jabučice gdje UZV optičkog živca pokazuje jasnu uniformnu nisku refleksiju, a ovojnica optičkog živca pokazuje bilateralne, tanke linije slabijeg odjeka (KISHK i EBRAHEIM, 2019.). Svako oko treba mjeriti iz različitih kuteva nakon čega se uzima srednja vrijednost. Oko je anatomski produžetak mozga te se uočava mnogo paralela između njihovih neurona, vaskularnog sustava i imunološkog odgovora. Nadalje, oba organa slično reagiraju na bolesti. Stoga je razumno pretpostaviti da će

multidisciplinarna istraživanja koja istražuju oba organa međusobno nadopunjavati, posebno u kontekstu neurodegenerativnih bolesti.

Korištenje mjerenja promjera ovojnice vidnog živca kao ogledala IKT-a temelji se upravo na pretpostavci da je intrakranijska šupljina u izravnom kontaktu s cerebrospinalnim likvorom koji ispunjava subarahnoidni prostor očnog živca i ovojnice koja ga obavija (HAYREH, 1964., KILLER i sur., 2003.). Logična posljedica toga bila bi da porast tlaka cerebrospinalnog likvora širi ovu ovojnicu, a ta bi se promjena mogla pratiti dinamički. Ova metoda omogućuje neuroznanstvenicima jedinstvenu priliku za mjerenje promjera ovojnice vidnog živca (ONSD), što bi moglo u stvarnom vremenu ukazivati na disfunkciju podatnosti (engl. *intracranial compliance*) (GEERAERTS i sur., 2008.).

Kod pacijenata sa netraumatskom intrakranijskom hipertenzijom, ONSD bio povezan s povišenim IKT-om (AMINI i sur., 2013.) To se s visokom osjetljivošću i specifičnošću moglo detektirati kada je IKT povećan za 5 mmHg, a povećan IKT do 15 mmHg se mogao detektirati stalno. Istraživanje LIU i sur., 2017. je pokazalo da je osjetljivost UZV mjerenja ONSD i određivanja IKT viša od 90 %, a uz to je UZV brza i jednostavna dijagnostička metoda koja se može stalno izvoditi. Iako se mjerenja ONSD za praćenje IKT često koriste, njegova je primjena još uvijek kontroverzna. Osim što postoje različita mišljenja o načinu izvođenja ultrazvučnog pregleda, vrijednosti izmjerene ultrazvučnim pregledom na različitim presjecima jako variraju, a ponovljivost pretrage je loša (BALLANTYNE i sur., 2002.). Štoviše, drugačije sonde će također napraviti razliku u prikazu ONSD (LI i WAN, 2021.). Iako je mjerenje sonografskog ONSD-a relativno jednostavno za naučiti i provesti, ono ima određena ograničenja. Ova metoda je kontraindicirana kod uobičajenih kliničkih stanja kao što su tumori orbite, upale oka, bolesti koje zahvaćaju promjer ovojnice vidnog živca, te kod pacijenata s lezijama vidnog živca (RABOEL i sur., 2012.).

Unatoč ovim ograničenjima, mjerenje ONSD-a postalo je korisna brza metoda za predviđanje povišenog intrakranijalnog tlaka. Brojna istraživanja u području neuroanestezije i neurointenzivne njege potvrdile su da je mjerenje ONSD-a korisno u upravljanju intrakranijalnom hipertenzijom. Iako je utvrđeno da povećanje ONSD-a u milimetrima odgovara značajnim promjenama u vrijednostima IKT-a, još uvijek postoji veliki put do

zamjene invazivnog monitoringa IKT-a, posebno u smislu osjetljivosti i specifičnosti (NAG i sur., 2019.).

2.6. Fiziologija intraokularnog tlaka i očne vodice

Intraokularni ili očni tlak (IOT), definiran je kao tlak tekućine u unutrašnjosti oka. Tlak nastaje pritiskom koji očna vodica radi na unutarnje strukture oka. S obzirom na to da se očna jabučica može promatrati kao kruti spremnik, tlak koji se stvara unutar oka određen je vanjskim tlakom i promjenama u volumenu sadržaja unutar oka (TWA, 2018.). Što se tiče volumena, sile koje nastaju u normalnom oku prvenstveno su određene dinamikom očne vodice (*engl. aqueous humor*, AH). Stalna proizvodnja i otjecanje očne vodice održavaju ovaj tlak. Iako staklasto tijelo (prozirna želatinozna masa između leće i mrežnice) ispunjava velik dio stražnjeg dijela oka, ovaj prozirni gel ima svoj stabilan volumen i stoga je manje uključen u regulaciju intraokularnog tlaka (MACHIELE i sur., 2024.).

Visina intraokularnog tlaka može iskazati sljedećom formulom (LEE i sur., 2019.):

 $IOP = EVP + (Q - U) \div C$

- Q proizvodnja očne vodice
- U uveoskleralno otjecanje
- C drenaža kroz trabekularni sustav
- EVP tlak u episkleralnim venama

Promjena ili fluktuacija ovih varijabli neizbježno će utjecati na IOT.

Za razumijevanje očnog tlaka, važno je poznavati osnove procesa stvaranja i otjecanja očne vodice. Očna vodica je bistra tekućina koja ispunjava prednju i stražnju očnu komoru (prostor između rožnice i leće). Njezin sastav sličan je plazmi, no s nižom koncentracijom proteina kako bi se održala njezina prozirnost. Sadrži primarno vodu, elektrolite, ugljikohidrate, ureu, antioksidanse poput askorbinske kiseline i glutationa, peptide i proteine,

kisik te ugljikov dioksid (GÖBEL i sur., 2011.). Potrebna je za održavanje volumena, oblika i prehrane svih unutarnjih struktura oka, uz minimalan broj krvnih žila. Osim toga, očna vodica pomaže zaštititi i održati refraktivne površine u pravilnom položaju, omogućujući ispravno funkcioniranje vida. Očnu vodicu neprestano proizvodi cilijarni epitel šarenice, cilijarno tijelo i *pars plana* u stražnjoj sobici prednjeg dijela oka. Njeno stvaranje rezultat je primarnog prijenosa natrijevog klorida (NaCl) i sekundarnog osmotskog kretanja vode kroz cilijarni epitel (CIVAN, 2008.). Nakon stvaranja, očna vodica kroz zjenicu cirkulira u prednju očnu sobicu odakle iz oka izlazi kroz jedan od tri glavna puta: kroz trabekularnu mrežu, otprilike 20 % kroz uveoskleralni put putem uvealne venske cirkulacije te manja količina vodice se vraća kroz šarenicu u stražnju očnu sobicu (BILL i PHILLIPS, 1971.; TORIS, 2008.).

Većina dosadašnjih istraživanja posebnu pozornost je posvetila istraživanju kretanja očne vodice u prednjem segmentu oka, dok postoji malo saznanja o njenom kretanju u stražnjoj očnoj sobici. Razlog tome može biti što staklasto tijelo koje ima fiksan i stabilan volumen i ne sudjeluje u cirkulaciji očne vodice, priječi njeno kretanje prema stražnjem segmentu. Osim toga, prehrana mrežnice i očnog živca osigurana je krvnim žilama i ne postoji potreba za takvom cirkulacijom (MATHIEU i sur., 2018.). Ipak, postoje istraživanja koja su pokazala postojanje mogućeg posteriornog protoka. Primarni pokazatelj potencijala za stražnji tok AH je ishodište tekuće komponente staklastog tijela (DAVSON, 1969.; TORIS, 2008.). Dokazano je da nakon uklanjanja cilijarnih nastavaka kod kunića dolazi do potpuno prestanka stvaranja očne vodice i atrofije staklastog tijela, što može ići u prilog tome da je očna vodica izvor staklaste tekućine (HAYREH, 1966.; MATHIEU i sur., 2018.). Druge istraživanja potvrdila su ovaj posteriorni tok AH u majmuna i sugerirale da se tekućina prenosi preko retinalnog pigmentnog epitela gdje ga zatim resorbira žilnica (CANTRILL i PEDERSON, 1982., 1984.; TORIS i PEDERSON, 1985.).

Osim posteriornog toka iz staklastog tijela u mrežnicu, postoje istraživanja na kunićima i psima koja su koristeći različite kemijske tragače pokazali posteriorno kretanje otopljenih tvari iz staklastog tijela u optički živac (HAYREH, 1978.; RODRIGUEZ - PERALTA, 1966.). Postojanje stražnjeg toka AH može biti važno iz više razloga. Prvo, ovaj protok bi mogao predstavljati dodatni put za izlazak očne vodice, što je iznimno bitno u okolnostima kada je ugrožena prednja drenaža (MATHIEU i sur., 2018.). Nadalje, s obzirom na nedostatak tradicionalnih limfnih žila u mrežnici i vidnom živcu, kontinuirani stražnji protok tekućine kroz

te strukture osigurava kontinuirano uklanjanje otopljenih tvari i metabolita čime se održava homeostaza intersticijske tekućine kao važanog elementa normalne funkcije stanica i tkiva.

2.6.1. Metode mjerenja intraokularnog tlaka

Više od tisućljeća je poznato da je povišen očni tlak povezan s razvojem glaukoma. To je dovelo do potrebe za određivanjem IOT i razvojem uređaja za njegovo mjerenje. Godine 1826., William Bowman je preporučivao digitalnu palpaciju kao dio rutinskog pregleda oka (STAMPER, 2011.). Von Graefe je 1863. godine razvio prvi instrument za mjerenje intraokularnog tlaka. Ovaj uređaj mjerio je očni tlak pomoću utegom opterećenog klipa koji je mjerio udubljenje bjeloočnice (ROBERT, 2011.). Prvi aplanacijski tonometar uveo je Adolph Weber 1867., no nije bio opće prihvaćen. Čak se 1872. godine digitalna palpacija još smatrala najboljom metodom za određivanje intraokularnog tlaka. Schiötz je dao značajan doprinos razvoju mjerenja intraokularnog tlaka uvođenjem prvog kornealnog indentacijskog tonometra početkom 20. stoljeća, koji je dominirao tijekom prve trećine stoljeća (STAMPER, 2011.). Međutim, pravo mjerilo u području mjerenja IOP-a donio je Goldmann, koji je 1954. godine revolucionirao ovu praksu uvođenjem svog applanacijskog tonometra, koji se smatrao zlatnim standardom za mjerenje očnog tlaka (GOLDMANN, 1955.; WHITACRE, 1993.).

Osnovna podjela metoda mjerenja intraokularnog tlaka je na invazivne i neinvazivne (GOLDBLUM i sur., 2002.). Invazivno se intraokularni tlak mjeri kanulacijom prednje očne sobice i ona se ne primjenjuje u ljudi već se više koristi u istraživanjima. Neinvazivne metode dijele se na kontaktne i nekontaktne. Kontaktne metode su indentacijska i aplanacijska tonometrija, a nekontaktne pneumotonometrijske (FILIPPOPOPULUS i sur., 2005.). Zlatni standard mjerenja IOT kod ljudi je Goldmannova aplanacijska tonometerija koja se zbog uvjeta mjerenja koje treba zadovoljiti, rijetko primjenjuje kod eksperimentalnih modela (DOHADWALA, i sur. 1998.). Kalibracijom TonoVet® i Tono-Pen Vet® tonometara u *ex vivo* istraživanju na očima svinje, uočeno je da se povratnom tonometrijom (TonoVet®) postižu točnija mjerenja radi čega bi se takav tonometar trebao koristiti kao tehnika mjerenja IOT u ove vrste (LEWIN i MILLER, 2016.).

Jedan od najnovijih tonometara je rebound tonometar. Ovaj uređaj nastao je iz potrebe za tonometrom koji je dovoljno precizan za male životinje poput miševa, a da ih pritom ne treba stavljati pod opću anesteziju ili jaku sedaciju (WANG i sur., 2005.). Njihove su oči toliko male da su applanacijski tonometri preveliki za točna očitanja. Rebound tonometar pokazao se vrlo preciznim kod ovih životinja unatoč stalnom kretanju. Slični tonometri razvijeni su već 1931. godine, uz moderniju modifikaciju iz 1967., ali nisu postigli široku upotrebu jer je njihova preciznost bila značajno pod utjecajem suznog filma i biomehanike rožnice (KNIESTEDT i sur., 2008.). Najnovija verzija rebound tonometra prvi je put opisana 1997. godine. Uređaj (ICare, Helsinki, Finska) koristi malu plastičnu kuglicu promjera 1,8 mm na žici od nehrđajućeg čelika koja se drži na mjestu elektromagnetskim poljem u ručnom uređaju na baterije. Kad se pritisne gumb, opruga brzo pogoni kuglicu prema naprijed (KONTIOLA, 1996.). Ovaj tonometar razvijen je za laboratorijska istraživanja na malim životinjama, a njegova preciznost potvrđena je u brojnim studijama na miševima (DANIAS i sur., 2003.; WANG i sur., 2005.). Budući da sonda dolazi u kontakt s rožnicom na samo nekoliko mikrosekundi, nije potrebna anestezija ni kod životinja ni kod ljudi (KONTIOLA i PUSKA, 2004.). Rebound tonometar pokazuje dobru usklađenost s očitanjima Goldmann i Tono-Pen tonometara, ali u prosjeku daje očitanja koja su otprilike 1,5 mm Hg viša od Goldmann tonometra (VAN DER JAGT i JANSONIUS, 2005.).

2.7. Manitol i njegov utjecaj na oba tlaka

Hiperosmolarne otopine poput manitola već se desetljećima koriste za akutno sniženje IKT i IOT. Mannitol je prirodni šećerni alkohol koji se široko koristi u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji (CHEN i sur., 2020.). Nakon apsorpcije u ljudsko tijelo, 75 % manitola fermentira i apsorbira se putem crijeva dok se preostalih 25 % apsorbira i izlučuje urinom. (LIVESEY, 2003; SONG i VIELLE, 2009.; CHEN i sur., 2020.). Proizvodnja manitola detaljno je proučavana u mnogim istraživanjima kroz različite biotehnološke strategije. Mnogobrojni mikroorganizmi, uključujući bakterije mliječne kiseline, kvasce i gljivice pokazali su potencijal za proizvodnju manitola fermentacijskim tehnikama (SAHA i RACINE, 2011.; DAI i sur. 2017.). Kao vrlo učinkovit dehidracijski agens i osmotski diuretik, manitol pomaže

smanjiti rizik od akutnog zatajenja bubrega kod pacijenata nakon transplantacije bubrega (ROCKWELL, 2015.; SHAWKAT i sur., 2012.).

Koristi se i u oftalmologiji gdje prema dosadašnjim istraživanjima, djeluje na način da povisuje osmolalnost plazme što dovodi do odovođenja tekućine iz staklastog tijela u cirkulaciju uzrokujući njegovu dehidraciju (GAIN i sur., 1968.). Novija istraživanja koja su provedena na vitrektomiziranim očima pokazala su statistički značajno smanjenje IOT nakon primjene manitola što pokazuje da osmotsko uklanjanje vode iz vitrealne šupljine nije dominantni mehanizam smanjenja IOT (RAMACHANDRA i sur., 2018.). Zbog toga se smatra da hiperosmolarne otopine djeluju osmotski na samo staklasto tijelo, ali i na očnu vodicu u prednjoj očnoj sobici kao i da utjecaj na tlakove ima centralni mehanizam preko samih osmoreceptora u hipotalamusu.

Osim svojih učinaka povezanih s osmotskom dehidracijom, manitol također smanjuje IKT povećavajući cerebralni perfuzijski tlak povećanjem resorpcije cerebrospinalne tekućine (CSF), izazivajući razrjeđivanje krvi radi smanjenja viskoznosti i izazivajući cerebralnu vazokonstrikciju (DIRINGER i sur., 2012., OREŠKOVIĆ i sur. 2018.). Osim manitola, za smanjenje IKT-a može se koristiti hiperventilacija. Manitol se u usporedbi s hiperventilacijom pokazao sigurnijim i učinkovitijim u povećanju cerebralnog protoka krvi, iako su ta dva pristupa liječenju slična u pogledu smanjenja IKT-a i povećanja cerebralnog perfuzijskog tlaka (SOUSTIEL i sur., 2006.).

U snižavanju IKT manitol se obično primjenjuje kao bolus kroz 30 – 60 minuta u dozi od 0,5 – 1,5 g/kg po dozi (WISE i CHATER, 1962.; SORANI i MANLEY, 2008.), no opisano je korištenje i do 2 g/kg (FLYNN, 2007.; NOMANI i sur., 2014.). Najjači učinak manitola uočava se 30 minuta nakon njegove primjene. (SHAWKAT i sur. 2012.; JURJEVIĆ i sur., 2012.),.

Dosadašnja istraživanja sugeriraju da manitol djeluje na smanjenje IKT u dvije faze. U prvoj fazi smanjuje viskoznost krvi, što poboljšava cerebralni vaskularni protok i oksigenaciju (HINSON i sur., 2010.). Iako su učinci manitola u ovoj fazi trenutačni, dokazano je da ovaj učinak doseže vrhunac unutar otprilike 30 minuta te opada 4 do 6 sati nakon primjene (SHAWKAT i sur., 2012.; WITHERSPOON i ASHBY, 2017.). Manitol također povećava intravaskularni volumen povećanjem osmolalnosti plazme, povlačeći tekućinu iz tkiva u intravaskularni prostor što može poboljšati minutni volumen srca. Ako je autoregulacija

očuvana, dolazi do kompenzatorne cerebralne vazokonstrikcije kao odgovor na smanjenu viskoznost i povećanje intravaskularnog volumena (DENNIS i MAYER, 2001.).

Druga faza smanjenja IKT-a događa se premještanjem tekućine iz izvanstaničnog prostora u intravaskularni prostor putem osmotskog gradijenta (JAFAR i sur., 1986.). Smatra se da, kako bi manitol uspješno izvukao vodu, krvno-moždana barijera mora biti netaknuta. Ipak, postoji rasprava oko toga je li tekućina uklonjena iz ozlijeđenog ili zdravog tkiva. Novija istraživanja ove faze pokazuju da manitol u fazi snižavanja IKT-a izvlači vodu dominantno iz likvorskog sustava, a ne iz parenhima mozga kako se to općenito vjeruje (OREŠKOVIĆ i sur., 2018.).

2.8. Svinja kao model u translacijskoj medicini

Translacijska neuroznanost je brzorastuće polje unutar biomedicinskog područja koja nastoji međusobno povezati osnovne znanstvene spoznaje te njihovu kliničku primjenu. Cilj joj je iz rezultata predkliničkih istraživanja u kojima se razviti nove metode liječenja i intervencije za neurološke poremećaje kod ljudi (DAVIES i sur., 2020.; HORN i sur., 2020.). U ovakvim istraživačkim procesima, ključno je korištenje životinjskih modela jer oni omogućuju proučavanje osnovnih mehanizama različitih bolesti te učinak liječenja na živom organizmu. Razvoj životinjskih modela koji vjerno oponašaju aspekte ljudskih neuroloških stanja od suštinske je važnosti za uspjeh translacijske neuroznanosti (FAGGION, 2015.). Glodavci su dugo bili primarni životinjski model za osnovna istraživanja, ali nisu uvijek prikladni za translacijska istraživanja zbog izraženih razlika u veličini, životnom vijeku, kao i metaboličkih, anatomskih i fizioloških razlika (GUTIERREZ i sur., 2015.).

U tom kontekstu, svinje (*Sus scrofa*) su se pokazale kao izuzetno vrijedan model zbog značajnih sličnosti njihove neuroanatomije, fiziologije i ponašanja s onima u ljudi (DAI i sur., 2018.). Svinje su jedna od najčešćih domaćih životinja na svijetu. U usporedbi s drugim stokom i primatima, odlikuju se brzim rastom, kratkim generacijskim intervalima, velikim leglima i standardiziranim tehnikama uzgoja (BÄHR i WOLF, 2012.; HOU i sur., 2022.). Ove prednosti doprinijele su postepenom porastu korištenja svinja kao modela za ljudske bolesti. Postojeći modeli svinja obuhvaćaju širok spektar ljudskih bolesti, uključujući kardiovaskularne bolesti, dijabetes, neurodegenerativne bolesti, genetske bolesti i rak (LOSSI i sur., 2016.; HOU i sur.,

2022.). Broj recenziranih radova koji opisuju korištenje svinja kao biomedicinskih modela povećao se osam puta u posljednjih 30 godina (GUTIERREZ i sur., 2015.). Svinja je već postala dobro uspostavljen model u mnogim područjima istraživanja i obuke. Primjerice, u proteklih 20 godina, svinja je zamijenila psa kao model za kiruršku obuku te je također dobila odobrenje FDA-e (Američka agencija za hranu i lijekove) za testiranje kirurških implantacijskih uređaja namijenjenih za ljudsku uporabu (SWINDLE i sur., 2012; SCHOOK i sur., 2015.; GUTIERREZ i sur., 2015.).

Svinja kao eksperimentalna životinja često se koristi za istraživanja promjena intrakranijskog tlaka i predstavljaj bolji model naspram glodavaca radi ključnih neuroanatomskih i neurofizioloških osobina kojima su sličnije ljudima (MISSIOS i sur., 2009.). Zbog veličine likvorskog prostora istraživanje se može kvalitetno obaviti jedino na velikim eksperimentalnim životinjama, jer se na taj način može uzorkovati likvor, pratiti njegova dinamika, kao i distribucija tvari u likvorskom prostoru, a da se pri tome ne poremete fiziološki odnosi u središnjem živčanom sustavu. Transgenična svinja korištena je s naprednim tehnologijama za proučavanje bolesti poput kardiovaskularnih bolesti, raka, dijabetesa, Alzheimerove bolesti, cistične fibroze i Duchenneove mišićne distrofije (FLISIKOWSKA i sur., 2014.; WEI i sur., 2022.). Osim toga, svinjski i ljudski mozak slično odgovaraju na cerebralna oštećenja i posljedične procese revaskularizacije (NAKAMURA i sur., 2009.), radi čega se svinje često koriste u istraživanjima cerebralnih bolesti. Svinje posjeduju značajne translacijske prednosti zbog urođenih neuroanatomskih sličnosti, uključujući gyrifikaciju (naboranost moždane kore), veliki promjer intrakranijalnih krvnih žila i visok omjer bijele prema sivoj tvari (GRALLA i sur., 2006.; KOBAYSAHI i sur., 2012.; KAISER i WEST, 2020.). Proporcionalno usporedive zapremine mozga između ljudi i svinja omogućuju izravniju procjenu doziranja terapije u predkliničkom modelu (ALLEN i sur., 2002.; CONRAD i sur., 2012.).

Oko svinje je preferirani životinjski model za istraživanja u oftalmologiji. Oko svinje se diljem svijeta koristi za podučavanje studenata medicine ili veterine kao i za obuku specijalizanata oftalmologije (SANCHEZ i sur., 2011.). Sličnosti u vizualnom sustavu uključuju strukturu i veličinu oka (WONG i sur., 2020.; CHOI i sur., 2021.; HENG i sur., 2024.), što je ključno za oponašanje kinetike difuzije staklastog tijela prilikom intravitrealne dostave lijekova (CHEN i WEBER, 2001.). Uzimajući u obzir model za traumatsku optičku

neuropatiju (TON), minijaturna svinja ima prednost otvorene koštane orbite, što olakšava kirurški pristup vidnom živcu (SIMOENS, 1993., PRATHER i sur. 2013.). Uz to, optički živac svinja slične je veličine kao i živac odraslog čovjeka što omogućuje transokularno praćenje živca i uočavanje promjena ultrazvučnom pretragom (HAMILTON i sur., 2011., SALAZAR i sur., 2019.).

Na kraju, visoki troškovi nabave i smještaja, kao i etički izazovi povezani s drugim velikim životinjskim modelima, manje su izraženi kod svinja, što ih čini privlačnom alternativom (KOBAYSAHI i sur., 2012.).

3. OBRAZLOŽENJE TEME

Intrakranijska hipertenzija (IKH) ili povišeni tlak likvora razvija se u otprilike 50 % pacijenata s traumatskom ozljedom mozga. Točni patofiziološki mehanizmi razvoja intrakranijske hipertenzije nisu dovoljno razjašnjeni i zbog toga predstavljaju težak klinički problem. Budući da se tlak likvora ili intrakranijski tlak (IKT) mjeri samo invazivnim putem, mogućnost mjerenja IKT-a neinvazivnim putem bio bi od iznimne koristi. U literaturi postoje oprečni podaci o povezanosti intraokularnog tlaka (IOT) s IKT za koje pretpostavljamo da su rezultat različitih metodologija mjerenja tih dvaju tlakova. Cilj istraživanja je praćenje akutnih promjena IKT-a (porast ili pad) i njihov odraz na promjene IOT-a i širinu ovojnice optičkog živca. Naime, na modelu cervikalne opstrukcije epiduralnog prostora doći će do isključenja spinalnog prostora kao najvažnijeg kompenzacijskog prostora te bi u takvom slučaju subarahnoidni prostor optičkog živca doživio puno veće promjene kod intrakranijske patologije jer bi morao preuzeti značajniju kompenzaciju.

Na temelju dosadašnjih istraživanja, postavljene su sljedeće hipoteze:

- 1. Vrijednosti dobivene izravnim mjerenjem intraokularnog tlaka kanulacijom prednje očne sobice nisu povezane s akutnim promjenama intrakranijskog tlaka.
- Promjene morfoloških karakteristika ovojnice optičkog živca odražavaju utjecaj promjena ukupnog volumena likvora.

Sukladno navedenom, postavljeni su sljedeći ciljevi istraživanja:

OPĆI CILJ: Istražiti učinak promjena intrakranijskog tlaka na intraokularni tlak i širinu očnog živca i njegove ovojnice.

CILJEVI:

- Razviti pokusni model za brzi porast intrakranijskog tlaka u svrhu određivanja utjecaja na vrijednosti intraokularnog tlaka.
- 2. Usporediti vrijednosti intrakranijskog i intraokularnog tlaka mjerenog invazivnom i neinvazivnom metodom.

- 3. Usporediti vrijednosti intraokularnog tlaka mjerenog invazivnom metodom s vrijednostima određenim neinvazivnom metodom primjenom povratne tonometrije na *in vivo* oku svinje.
- 4. Istražiti promjene širine očnog živca i njegove ovojnice ultrazvučnom pretragom prilikom cervikalne opstrukcije.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Ex vivo postavljanje i kontrola mjernih kanila

Prije početka in vivo istraživanja na svinjama, proveden je ex vivo pokus u kojem smo na kadaveru testirali položaj kanila za invazivno mjerenje intraokularnog i intrakranijskog tlaka (Slika 4.). Pristupom na lateralni očni ugao desne očne jabučice, perilimbalno na 3 sata postavili smo pedijatrijski sistem za vađenje krvi (KD-FLY ® 25 G, KD Medical GMBH Hospital Products, Berlin, Njemačka). Kako bi se spriječilo istjecanje očne vodice, područje sistema je fiksirano cijanoakrilatnim ljepilom (Histoacryl® B.Braun, Aesculap AG, Njemačka). Sistem je nakon toga spojen na pretvarač tlaka (Meritrans DTXPlus®, Merit Medical Irelnad Ltd., Irska) koji je spojen na anesteziološki monitor. Aplikacijom fiziološke otopine u prednju očnu sobicu i dobivanjem pulzacijskog vala na anesteziološkom monitoru je testirana intraokularna kanila. Položaj intrakranijske kanile smo testirali umetanjem intravenske kanile (Vasofix® Certo 20G, 1,1 x 33 mm, B.Braun Melsungen AG, Njemačka) u lateralnu moždanu klijetku prema standardnim koordinatama po uzoru na ranija istraživanja (CIARROCCHI i sur., 2022.). Položaj kanila potvrđen je kompjuteriziranom tomografijom, CT uređajom (SIEMENS Healthineers SOMATOM go. Now) (Slika 5.).



Slika 4. Postavljanje intraokularne kanile za invazivno mjerenje intraokularnog tlaka tijekom ex vivo pokusa te provjera mjernog uređaja.



Slika 5. Kompjuterizirano tomografske (CT) slike glave u poprečnom (aksijalnom) i bočnom (sagitalnom) presjeku radi provjere koordinata i položaja katetera: na oba presjeka uočava se kateter umetnut u ventrikularni sustav mozga.

4.2. Eksperimentalne životinje

Istraživanje je provedeno u skladu s dobivenom etičkom privolom (EP 280/2020) koju je izdalo Nacionalno etičko povjerenstvo (Rješenje KLASA broj: UP/I-322-01/20-01/11) te uz dozvolu etičkog povjerenstva Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Klasa: 640-01/23-02/09).

Životinje korištene tijekom pokusa nabavljene su iz istog ovlaštenog uzgoja u skladu sa Zakonom o dobrobiti životinja (NN 102/17). U pokusu smo koristili šest svinja, zdravih ženki križane pasmine (landras i durok), oko 3 mjeseca starosti, tjelesne mase do 30 kg. Kako bi se u svrhu pokusa žrtvovao što manji broj životinja i poštivalo 3R načelo, svinje su služile same sebi kao kontrolna skupina.

Preoperativni postupak, anestezija i analgezija provedena je jednako kod svih svinja. Sve svinje su prije početka pokusa pregledane kako bi se utvrdilo da nemaju neurodegenerativnih i oftalmoloških bolesti. Ukoliko su uočene patološke promjene, svinje su isključene iz istraživanja. Operacije tijekom pokusa su na svim svinjama izvedene od strane istih članova tima koji su prošli edukaciju za rad s pokusnim životinjama uz opću inhalacijsku anesteziju pod nadozorom anesteziologa. Svi zahvati su izvedeni na Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

4.3. Anestezija i analgezija

Sve životinje su na Fakultet dostavljene propisno, minimalno 24 sata prije početka pokusa kako bi se mogle aklimatizirati i akomodirati na novu okolinu te kako bi se minimalizirao stres. Hrana im je bila uskraćena 12 sati prije anestezije uz slobodan pristup vodi. Svinje su sedirane u oboru intramuskularnom aplikacijom fentanila (Fentanyl® 50 µg/mL, Piramal Critical Care B.V., Nizozemska) u dozi 50 µg/kg i midazolam (Midazolam 15 mg/ 3 mL, AS KALCEKS, Latvija) u dozi 1 mg/kg, nakon čega su prevezene u operacijsku dovoranu gdje im je u cefalični venu postavljena intravenska kanila (Vasofix® Certo 20G, 1,1 x 33mm, B.Braun Melsungen AG, Njemačka). Putem vene je apliciran inducijski anestetik propofol (Propofol 1 % MCT

Fresenius, Fresenius Kabi, Austrija) koji je titiran do učinka nakon čega su svinje intubirane endotrahealnim tubusom (ETT) (VentiSealTM, Flexicare Medical Limited, Ujedinjeno Kraljevstvo) odgovarajuće veličine. Nakon intubacije, svinje su postavljene na operacijski stol u sternalni položaj te su spojene na anesteziološki aparat (Datex-Ohmeda Aespire View, Datex-Ohmeda Inc., SAD). Normotermija je osigurana korištenjem kondukcijske grijače podloge (Dormosafe L, Intensovet GmbH, Njemačka). Hidracija i euvolemija su održavane intravenskom primjenom balansirane izotonične kristaloidne otopine (Plasma Lyte 148 Viaflo, Baxter, Slovenija) brzinom 5 mL/kg/h tijekom trajanja čitavog pokusa. Inhalacijska anestezija je održavana primjenom izoflurana 1 - 2 % (Isoflurin® 1000 mg/g, VETPHARMA ANIMAL HEALTH, S.L., Španjolska) u mješavini kisika i medicinskog zraka. Analgezija je tijekom pokusa osigurana kontinuiranom intravenskom primjenom fentanila u dozi $30 - 60 \mu g/kg/h$.

Putem anesteziološkog monitora (CARESCAPE Monitor B650, GE Healthcare, Finland Oy, Finska) kontinurano su tijekom pokusa praćeni vitalni pokazatelji. Za vrijeme trajanja anesteziji, životinje su bile pod direktnim nadozorom anesteziologa koji je ovisno o statusu životinje i vitalnim pokazateljima korigirao doze anestetika i analgetika te stadij anestezije.

U svrhu invazivnog praćenja arterijskog tlaka i uzorkovanja krvi radi određivanja acidobaznog statusa, svinjama je u *a. saphena medialis* postavljena arterijska kanila. Tijekom pokusa, svakih 30-60 minuta je iz kanile uzorkovano 0,3 ml krvi kako bi se odredio acidobazni status te izmjerili plinovi, glukoza i elektroliti u krvi. Krv je analizirana pomoću prijenosnog uređaja i-STAT1 (iSTAT®1 Analyzer, Abbot Point of Care Inc., SAD).

Sve životinje su po završetku pokusa eutanazirane u dubokom stadiju anestezije pripravkom registriranim za eutanaziju životinja (T61, Intervet International BV Boxmeer, Nizozemska), prema uputi proizvođača.

4.4. Ultrazvuk oka i neinvazivno mjerenje očnog tlaka

Ultrazvučni pregledi napravljeni su korištenjem ultrazvučnog uređaja SonoScape X5V/X3V (SonoScape Medical Corp., Guangdong, Kina) opremljenog linearnom sondom (L741) frekvencijskog rapsona od 4 do 16 MHz. Ultrazvučne snimke su napravljene na početku svake faze pokusa, petnaest minuta nakon postizanja stabilizacije tlakova po edemu i opstrukciji te trideset minuta po završetku aplikacije manitola. Svi ultrazvučni zapisi su naknadno analizirani u DICOM® standardu od strane tri neovisna promatrača koji nisu bili upoznati s razinom tlakova niti s fazama pokusa. Promjeri od interesa (očni živac i ovojnica očnog živca) mjerili su se 3 mm iza papile očnog živca (DUBOURG i sur., 2011.) kako bi se osigurala ujednačenost. Prilikom obrade podataka, korištena je srednja vrijednost tri uzastopna mjerenja od svakog istraživača. Ultrazvučna pretraga oka napravljena je u sljedećim točkama:

Ti0: prije početka kontrolne faze

Ti60: 30 minuta po završetku aplikacije hiperosmolarne otopine Manitola u kontrolnoj fazi

Te15: nakon stabilizacije tlakova po izazivanju intrakranijske hipertenzije

Tem45: 30 minuta po završetku hiperosmolarne otopine Manitola u fazi edema

To15: 15 minuta po stabilizaciji tlakova po opstrukciji

Tom45: 30 minuta po završetku aplikacije hiperosmolarne otopine Manitola u fazi opstrukcije



Slika 6. UZV prikaz oka u uzdužnom presjeku sa označenim mjernim parametrima: (A) aksijalna duljina očne jabučice, (B) dubina prednje očne sobice, (C) dubina vitrealne šupljine, (D) promjer ovojnice očnog živca (3 mm iz optičkog diska).

Na svakom bulbusu izmjereno je 5 različitih varijabli: promjene veličine prednje očne sobice (l-POS), vitrealne šupljine (l-VITR), duljine podužne osi jabučice (AGL) te promjene promjera optičkog živca (ON) i njegove ovojnice (ONS) (Slika 6). Za precizna transbulbarna ultrazvučna mjerenja promatrač mora biti dobro upoznat s anatomskim strukturama unutar orbite. ON i ONS ultrazvučno se prikazuju kao hipoehogene strukture.

Transbulbarna sonografija i tonometrija su obavljene samo na desnom bulbusu jer je u lijevo oko bila postavljena kanila za invazivno mjerenje intraokularnog tlaka (osim na samom početku pokusa kada su zabilježene početne vrijednosti oba bulbusa). Sloj ultrazvučnog gela (EKO GEL, CERACARTA S.p.A, Italija) nanesen je na zatvoreni gornji kapak. Sonda je postavljena isključivo na gel u temporalnom području kapka kako bi se spriječilo vršenje pritiska na oko (Slika7.). Položaj sonde se prilagođavao kako bi se dobio odgovarajući kut za prikaz ulaska optičkog živca u očnu jabučicu.



Slika 7. Transbulbarna sonografija desnog oka svinje radi praćenja promjena očnih komora, očnog živca i njegove ovojnice.

Na istom bulbusu smo pomoću povratnog tonometra (TonoVet®) neinvazivno pratili promjene intraokularnog tlaka (Slika 8.). TonoVet® koristi malu plastičnu sondu koja se elektomagnetski izbacuje iz uređaja prema površini rožnice. Odbijanjem sonde od rožnicu, stvara se napon koji se pomoću algoritama specifičnih za pojedinu vrstu (pas, mačka, kunić, konj) pretvara u vrijednost intraokularnog tlaka (IOT). Tijekom mjerenja, uređaj očitava šest

očitanja te izračunava prosjek. Optimalan uređaj za procjenu intraokularnog tlaka kod svinja je nepoznat. Prema rezultatima *ex vivo* istraživanja provedenog na enukleiranim očima svinja, uočeno je da onoVet® (postavljen na opciju za psa) realnije prikazuje vrijednost tlaka radi čega smo se i mi odlučili na tu metodu mjerenja (LEWIN i sur., 2016.).



Slika 8. Neinvazivno mjerenje intraokularnog tlaka povratnim tonometrom, Tonovet®.

4.4.1. Testiranje ponovljivosti ultrazvučne pretrage i pouzdanosti ispitivača

Kako bi se objektivizirala ultrazvučna pretraga i greška mjerenja smanjila na minimum te ispitala pouzdanost same pretrage, međusobno smo usporedili uzastopna mjerenja dobivena od strane jednog ispitivača napravljena tijekom izvođenja pokusa. Slika 9. prikazuje *intraclass correlation coefficient* (ICC) vrijednosti za različite ultrazvučne varijable (UZV varijable), analizirane prema dobivenim mjerenjima. ICC procjenjuje stupanj pouzdanosti između mjerenja, gdje se vrijednosti mogu interpretirati kao:

ICC ispod 0,5 označava slabu pouzdanost

ICC između 0,5 i 0,75 označava umjerenu pouzdanost,

ICC iznad 0,75 označava dobru pouzdanost.

Za varijablu optički živac (ON) i ovojnicu optičkog živca (ONS), ICC vrijednosti približno iznose 0,5. To sugerira da postoji umjereno slaganje među mjerenjima različitih operatora za ovu varijable.

Za varijablu prednja očna sobica (POS), ICC vrijednosti su najniže u odnosu na ostale varijable dok su za varijablu podužne osi očne jabučice (AGL), ICC vrijednosti su najviše, što ukazuje na dobru pouzdanost. Kod određivanja dubine vitreusa (VITR), ICC vrijednosti su također vrlo visoke pri čemu sve vrijednosti prelaze 0,75. Ovo ukazuje na konzistentnost i dobro slaganje među mjerenjima za ovu varijablu.

Zbog umjerenog slaganja za varijable ON i ONS, a slabije ICC vrijednosti za varijablu POS, kako bi povećali pouzdanost i točnost mjerenja, odlučili smo da će svi ultrazvučni zapisi biti analizirani u DICOM® standardu od strane tri neovisna promatrača koji nisu bili upoznati s razinom tlakova niti s fazama pokusa te će statistički dalje obrađivati srednje vrijednosti tri uzastopna mjerenja od svakog istraživača.



Slika 9. Slika prikazuje ICC vrijednosti za UZV varijable iz pokusa (ON, ONS, POS, AGL, VITR), s rasponom osi ICC od 0.0 do 0.75.

4.5. Kirurški zahvati

4.5.1. Kraniotomija za postavljanje intrakranijske kanile i uvođenje foleyevog katetera

kom pokusa, učinjena su 3 kirurška zahvata na svakoj svinji. Prvo je učinjena kraniotomija u svrhu postavljanja mjerne kanile za invazivno praćenje intrakranijskog tlaka (NEUROVENT, RAUMEDIC AG, Njemačka). Romboidni rez napravljen je skalpelom na spoju čeone i tjemene kosti, nakon čega je uklonjena koža i odignuti su mišići kako bi se vizualizirali šavovi lubanje – uzdužni tjemeni šav (*sutura sagittalis*) i vjenačni šavovi (*suturae coronalis*). Potom je obilježena koordinata za uvođenje kanile u lateralnu komoru (7 mm lateralno i 10 mm posteriorno od bregme) (Slika 10.). Na tom mjestu je pomoću visokofrekvente bušilice učinjen otvor na kosti. Nakon toga je mjerna kanila postavljena kroz otvor 5 cm u dubinu lateralne komore. Pozicija u komori je potvrđena aspiracijom likvora. Kalibracija kanile je izvedena prema standardima koje je propisao proizvođač. Kanila je zatim spojena na anesteziološki monitor (CARESCAPE Monitor B650, GE Healthcare, Finland Oy, Finska) pomoću pretvarača tlaka (NPS2, GE/MARQUETTE, RAUMEDIC AG, Njemačka). Pojavom pulzacijskog vala na monitoru, dodatno je potvrđena pozicija kanile te je započeto invazivno mjerenje intrakranijskog tlaka čija su mjerenja dobivena tijekom pokusa označena kraticom "IKT".



Slika 10. Označavanje mjernih koordinata za izvođenje kraniotomije radi postavljanja mjerne kanile (7mm lateralno od bregme)

Istim pristupom, kontralateralno na desnoj strani lubanje učinjen je otvor u svrhu uvođenja Foleyevog katetera (Unomedical 8 Fr 310 ± 10 mm, 3 mL, ConvaTec, Well Lead Medical Co. Ltd., Kina) i izazivanja intrakranijske hipertenzije (Slika11.). Kateter je postavljen epiduralno iznad desne lateralne moždane komore te je uveden sve dok proksimalni kraj balona nije prošao unutarnju površinu lubanje za 5 mm kako je opisano u prijašnjim istraživanjima (CIARROCCHI i sur., 2022.).



Slika 11. Prikaz mjerene kanile i Foleyevog katetera po njihovom uvođenju i fiksaciji.

4.5.2. Cervikalna dorzalna laminektomija

Cervikalna stenoza je model koji su 2016. godine razvili Klarica i suradnici. Cilj stenoze je prekinuti komunikaciju između kranijskog i spinalnog likvorskog prostora kako bi isključili njegovu kompenzacijsku ulogu u regulaciji tlakova. Nakon kožnog reza u saigitalnoj ravnini i prepariranja mišićja, prikažu se trnasti izdanci 2. i 3. vratnog kralješka, nakon čega se trnasti izdanci uklone kliještima za kost po Lempertu. Visokofrekvetnom bušilicom i kliještima za kost po Kerrisonu se napravi dorzalna laminektomija te se prikaže moždina. Kirurška nit

(Surgipro 2-0, Covidien, Njemačka) se provede oko moždine te će se u kasnijim fazama pokusa dotezanjem niti napraviti opstrukcija (Slika 12.).



Slika 12. Prikaz cervikalne stenoze kirurškom niti Surgipro 2-0.

4.5.3. Postavljanje intraokularne kanile

Postavljanju intraokularne kanile za invazivno mjerenje intraokularnog tlaka pristupili smo tek nakon što su napravljeni operacijski pristupi tijekom kojih je veća manipulacija kako bi minimalizirali pomicanje kanile ili njeno oštećenje. Kanila za mjerenje tlaka postavljena je u bulbus lijevog oka. Pomoću oftalmoloških lupa, povećanja 2x (Eschenbach Optik maxDETAIL ®, ESCHENBACH GhBM, Nuremberg, Njemačka) pedijatrijski sistem za vađenje krvi (KD-FLY ® 25 G, KD Medical GMBH Hospital Products, Berlin, Njemačka) plasiran je kroz intrakornealni tunel, 1 mm od ruba limbusa u prednju očnu sobicu lijevog oka (Slika 13.). Položaj kanile potvrđen je izravnim vizualnim opažanjem igle u prednjoj očnoj sobici, dok je prohodnost igle provjerena promatranjem fizioloških oscilacija intraokularnog tlaka (pojava pulzacijskog vala na krivulji tlaka na anesteziološkom monitoru) (Slika 12.).



Slika 13. Prikaz postavljanja kanile za invazivno mjerenje intraokularnog tlaka u prednju očnu sobicu lijevog oka.

Kako bi se spriječilo istjecanje očne vodice, područje sistema je fiksirano cijanoakrilatnim ljepilom (Histoacryl® B.Braun, Aesculap AG, Njemačka). Pretvarač je zatim bio kalibriran tako da je tlak u mjernoj komorici izjednačen s atmosferskim tlakom. Drugim riječima, vrijednost 0 mm Hg tlaka je odgovarala atmosferskom tlaku. Mjerna komorica je zatim spojena na anesteziološki monitor (B30, GE Medical Systems, Information Technologies GmbH, Njemačka) nakon čega je započelo kontinuirano izravno mjerenje invazivnog intraokularnog tlaka.



Slika 14. Prikaz pojave pulzacijske krivulje invazivno mjerenog intraokularnog tlaka na anesteziološkom monitoru nakon postavljanja kanile (crveni krug).

4.6. Faze pokusa

4.6.1. Faza 1: Kontrolna faza

U kontrolnoj fazi pokusa željeli smo ispitati utjecaj hiperosmolarne otopine manitola u svinja u početnim kontrolnim uvjetima (s intaktnim kranijem i bez opstrukcije) (Slika 15.). Podaci prikupljeni u ovom dijelu istraživanja predstavljalju podatke za kontrolnu skupinu životinja čime je smanjen broj žrtvovanih životinja što je u skladu s 3R načelima. Nakon postavljanja intrakranijske i intraokularne kanile, dozvolje je period stabilizacije tlakova, 15 minuta od završetka manipulacije i kirurških zahvata (Ti0 – Ti15). Na desnom oku je napravljena UZV pretraga te je u istom periodu neinvazivno pomoću povratnog tonometra izmjeren intraokularni tlak (Ti0). Nakon perioda stabilizacije, životinjama je intravenski aplicirana 10 % hiperosmolarna otopina Manitola (Manitol HZTM 10 %, Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska) u dozi 1 mg/kg kroz 15 minuta (Ti-m0 – Ti-m15). Intrakranijski tlak i intraokularni tlak (mjeren invazivnom i neivazivnom metodom) su potom praćeni sljedećih 60 minuta kontinuirano, a vrijednosti tlakova su bilježene svakih 5 minuta do isteka bolusa manitola, a po isteku manitola (Ti-m15 – Ti-m75) svakih 10 minuta do kraja faze. Ultrazvučna pretraga desnog oka ponovljena je pola sata od završetka bolusa manitola kada je prema dosadašnjim istraživanjima vidljiv njegov najveći učinak (SHAWKAT i sur., 2012.)



Slika 15. Shematski prikaz kontrolne faze pokusa u kojoj su postavljene kanile za mjerenje tlakova: (1)intravenski kateter, (2) kateter za invazivno mjerenje arterijskog tlaka, (3) intraokularni kanila za invazivno mjerenje intraokularnog tlaka, (4) ultrazvučna sonda za UZV praćenje promjena na bulbusu, (5) intrakranijski kanila za invazivno mjerenje IKT-a (izrađeno u programu Biorender).

4.6.2. Faza 2: Intrakranijska hipertenzija

U ovoj fazi pokusa smo kroz ranije pripremljen otvor na desnoj (kontralateralnoj strani) u kranijum uveli Foleyev kateter (Slika 16.). Kateter je postavljen epiduralno iznad desne lateralne moždane klijetke sve dok proksimalni kraj balona nije prošao unutarnju površinu lubanje za 5 mm. Kako bi se spriječilo pomicanje katetera, otvor kraniotomije je zatvoren cijanoakrilatnim tkivnim ljepilom. Prije izazivanja intrakranijske hipertenzije učinjen je UZV desnog oka. Intrakranijska hipertenzija je izazvana ručnim postepenim punjenjem balona kroz 2 minute do ukupne zapremnine balona od 3 ml. Kao i u prethodnoj kontrolnoj fazi pokusa, dozvoljen je period stabilizacije tlakova u trajanju od 15 minuta (TF0 – TF15). Potom je ponovno aplicirana otopina manitola (u istoj dozi i vremenu) (TF-m0 – TF-m15) te su tlakovi praćeni svakih 5 minuta, nakon čega je dinamika tlakova praćena kroz idućih sat vremena (TF-m15 – TF-m75), a tlakovi su bilježeni svakih 10 minuta. UZV pretraga desnog oka i praćenje promjena promjera optičkog živca i njegove ovojnice izvedene su prije izazivanja hipertenzije, 15 minuta po hipertenziji te pola sata nakon primjene bolusa manitola.



Slika 16. Shematski prikaz faze intrakranijska hipertenzija koja je izazvana postavljanjem Foleyevog katetera (broj 5.) (izrađeno u programu Biorender).

4.6.3. Faza 3: Cervikalna stenoza

U posljednoj fazi pokusa, izazvali smo snažnu cervikalnu stenozu (Slika 17.). Cilj stenoze bio je prekinuti komunikaciju između kranijskog i spinalnog likvorskog prostora kako bi isključili njegovu kompenzacijsku ulogu u regulaciji tlakova. Ranije pripremljenu i provučenu kiruršku nit postepeno smo kroz 2 minute dotezali postavljanjem kirurškog čvora. Prije početka stvaranja opstrukcije, učinjen je UZV desnog oka. Nakon izazivanja opstrukcije, ponovno je dozvoljen period stabilizacije tlakova od 15 minuta (TO0 – TO15), a potom je kao i u prethodnim fazama pokusa aplicirana otopina manitola u istoj dozi i istom vremenu (TO-m0 – TO-m15). Tlakovi su nakon završetka bolusa manitola ponovno praćeni kroz 60 minuta. UZV pretraga oka i praćenje promjena na optičkom živcu i njegove ovojnice napravljene su prije izazivanja opstrukcije, 15 minuta po opstrukciji te pola sata nakon primjene bolusa manitola.

Tijekom sve 3 faze pokusa praćena je dinamika intrakranijskog i intraokularnog tlaka (mjerenog invazivnom i neinvazivnom metodom), utjecaj manitola na tlakove dok su ultrazvulnom pretragom očne jabučice praćene promjene u području očnog živca i njegove ovojnice. Osim toga, praćene su promjene veličine prednje očne sobice, vitreusa i duljine podužne osi očne jabučice.

Tijekom ove faze pokusa zabilježen je mortalitet jedne jedinke kao posljedica razvoja Cushingovog refleksa. Nakon arterijske vazokonstrikcije, manifestirane hipertenzijom (sistolički arterijski tlak > 200 mm Hg), uslijedila je bradikardija (pad srčane frekvencije ispod 60 otkucaja u minuti), nakon čega je došlo do srčanog zastoja. Budući da je razvoj Cushingovog refleksa definiran kao krajnja točka pokusa, nije se pristupilo reanimaciji jedinke.



Slika 17. Shematski prikaz faze stenoze koja je izazvana postavljanjem kirurške niti u cervikalnom području (broj 6.) (izrađeno u programu Biorender).

4.7. Eutanazija i patohistološka pretraga uzoraka

Svinje su po završetku pokusa eutanazirane u dubokom stadiju opće anestezije, intravenskom primjenom sredstva za eutanaziju životinja u dozi preporučenoj od strane proizvođača. Smrt je ustanovljena prestankom mehaničke i električne srčane aktivnosti. Nakon usmrćivanja obje očne jabučice su fiksirane i pohranjene radi patohistološke pretrage kako bi se utvrdile i opisale promjene u području očnog živca i njegove ovojnice (Slika18.). Fiksacija preparata je učinjena aplikacijom 4 % formaldehida (CIARO PROM D.O.O., Hrvatska) intravitrealno i aplikacijom u prednju očnu sobicu prije samog uklanjanja očne jabučice kako bi se izbjegla jatrogena oštećenja i promjene na ovojnici optičkog živca.



Slika 18. Prikaz uzorka očne jabučice s očnim živcem po fiksaciji i enukleaciji.

Histopatološki preparati uzoraka očnih jabučica izrađeni su prema standardnom postupku. Fiksirani uzorci su narezani i pripremljeni za dehidraciju u histokinetu. Nakon pripreme preparata, uklopljeni su u parafin te su parafinski blokovi rezani na mikrotomu. Histološki rezovi su učinjeni na debljini 4 µm te su stavljeni na predmetna stakalca i obojani hematoksilin-
eozin metodom (HE) te poklopljeni pokrovnim stakalcem. Histopatološke promjene su analizirane svjetlosnim mikroskopom (Digicyte DX50) uz pomoć objektiva 4x, 10x, 20x i 40x, a reperezentativne promjene fotografirane su kamerom (Digicyte BigEye) i računalnog softvera (Digicyte Capture).

4.8. Statistička obrada podataka

Opisni rezultati su prikazani parametrima centralne tendencije odgovarajućim distribuciji i mjerilima centralne tendencije i varijabilnosti za kvantitativne podatke (srednja vrijednost, standardna devijacija, medijan, interkvartalni raspon, ukupni raspon). Za testiranje normalne distribucije podataka je korišten Shapiro-Wilkov test. Kvalitativni podaci su opisani učestalošću i tablicom kontingencije. Rezultati su statistički analizirani prema tipu podataka te udovoljavanju pretpostavkama i kriterijima statističkih metoda (distribucija i zavisnost podataka). Stoga, korištene su parametarske (T test i ANOVA) i neparametarske metode (Wilcoxonov i Kruskal-Walisov test) za kvantitativne podatke. U slučaju zavisnih uzoraka su korišteni odgovarajući statistički testovi (ANOVA za ponovljena ispitivanja i Friedmanov test). Jednako tako, zavisni i nezavisni unakrsni T test i Wilcoxonov test rangova su učinjeni za posthoc analize razlika između usporednih skupina bez korekcije p vrijednosti. Korelacijski testovi su također odabrani primjereni distribuciji kvantitativnih podataka, Pearsonov test za normalno distribuirane, a Spearmanov korelacijski test za nenormalno distribuirane podatke. Za kvalitativne podatke je korišten Fisherov i Hi-kvadrat test za analize razlike učestalosti nezavisnih podataka te McNemarov test simetrije za zavisne podatke. Za usporedbu invazivnog i neinvazivnog mjerenja intraokularnog tlaka je korištena Bland-Altman analiza. Za usporedbe višetrukih operatera ultrazvučnih mjerenja su korišteni testovi stupnja slaganja intraklasnim koeficijentom korelacije (ICC). Statistička značajnost rezultata je promatrana na razini p<0,05. Sve analize i vizualizacije su učinjene korištenjem R programskog softvera v.4.4.1. (R Core Team (2024). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.) u integriranom okružju RStudio softvera verzije 2024.09.1 (URL https://posit.co/).

5. REZULTATI

U skladu sa ranije postavljenim kriterijima za isključene (postojanje neurodegenerativnih i oftalmoloških bolesti), istraživanje je provedeno na svim jedinkama te nijedna nije isključena iz pokusa. Kompletan pokus sa svim fazama proveden je na 5/6 jedinki. Jedna je jedinka u zadnjoj fazi pokusa (faza cervikalne stenoze) uginula prilikom samog izazivanja stenoze.. Na istoj jedinki je prilikom postavljanja intraokularne kanile za inzvazivno mjerenje intraokularnog tlaka došlo do krvarenja na šarenici u njenom lateralnom području što je dovelo do ispunjenja prednje očne sobice krvlju te je rezultiralo opstrukcijom intraokularne kanile i nemogućnošću invazivnog mjerenja intraokularnog tlaka.

Tablica 3. Prikaz vrijednosti UZV varijabli podužne osi jabučice (AGL), prednje očne sobice (l-POS), vitrealne šupljine (l-VITR), te promjene promjera optičkog živca (d-ON) i njegove ovojnice (d-ONS) desnog i lijevog bulbusa na početku pokusa u kontrolnoj fazi izraženih u mm.

STRUKTURA	DESNO OKO	LIJEVO OKO
AGL	$16,9 \pm 0,6 \text{ mm}$	$17 \pm 0.8 \text{ mm}$
I-POS	$1,7 \pm 0,1 \text{ mm}$	$2 \pm 0.5 \text{ mm}$
I-VITR	$8{,}8\pm0{,}5\text{ mm}$	$8,6 \pm 0,5 \text{ mm}$
d-ON	$3,4 \pm 0,1 \text{ mm}$	$3,4 \pm 0,4 \text{ mm}$
d-ONS	$5,5 \pm 0,2 \text{ mm}$	$5,4 \pm 0,3 \text{ mm}$

Prosječna tjelesna težina pokusnih jedinki iznosila je $29,7 \pm 3,9$ kg. Prosječno trajanje anestezije iznosilo je $577,5 \pm 42,3$ minuta. Pravilno pozicioniranje intraokularne kanile za invazivno mjerenje intraokularnog tlaka unutar prednje očne sobice potvrđen je kod svih jedinki pojavom pulzacijskog vala na monitoru kao i vizualnom potvrdom kanile unutar sobice pod mikroskopskim povećanjem. Pravilan položaj intrakranijske kanile također je potvrđen pojavom pulzacijskog vala na monitoru zaživotno, a zatim obdukcijski. U svih jedinki je uspješno postignuta intrakranijska hipertenzija. Tijekom pokusa, ukupno je ultrazvučno pregledano 12 bulbusa. Na svakom bulbusu izmjereno je 5 različitih varijabli koje su prikazane u Tablici 3.

Iz Tablice 3. vidi se kako su pojedine strukture oba oka gotovo iste i statistički se ne razlikuju u kontrolnoj fazi pokusa.

5.1. Intrakranijski tlak tijekom faza pokusa

Promjene IKT-a u tijekom različitih faza pokusa prikazane su na Slici 19. Uspoređene su vrijednosti IKT-a s različitim fazama pokusa, gdje je mjeren intrakranijalni tlak (IKT) izražen u mm Hg (na Y-osi) u šest različitih uvjeta (na X-osi). Grupe na X-osi označene su kao kontrola, manitol, intrakranijska hipertenzija (IKH), IKH + manitol, cervikalna stenoza (CS), CS + manitol.



Slika 19. Točke predstavljaju pojedine vrijednosti intrakranijskog tlaka - IKT (mmHg) u različitim fazama pokusa (kontrola, manitol, IKH, IKH + manitol, CS, CS+ manitol). Deblja horizontalna linija predstavlja medijan, a pravokutnik predstavlja interkvartilni raspon od 25 – 75 % vrijednosti IKT-a. Tanke horizontalne linije povezuju grupe pojedinih vrijednosti IKT-a u određenoj fazi pokusa koje su bile statistički uspoređivane (*p<0,05; **p<0,01).

U kontrolnoj fazi prosječna vrijednost IKT-a iznosila je 10,17 \pm 2,2 mmHg s rasponom od 7 do 14 mmHg. Vrijednosti IKT-a nakon aplikacije hiperosmolarne otopine manitola nisu značajno varirale u odnosu na kontrolnu fazu praćenja IKT-a. U fazi intrakranijske hipertenzije koju smo izazvali postavljanjem Foleyevog katetera u epiduralni prostor (vidi poglavlje 4. Materijal i metode) došlo je do značajnog povećanja IKT-a na 28,8 \pm 11,9 mmHg. Ovo povećanje intrakranijskog tlaka, statistički je značajno u usporedbi s kontrolnom fazom (p < 0.01). Nakon primjene manitola u fazi intrakranijske hipertenzije, IKT se smanjio na 19,3 \pm 5,8 mmHg, što je statistički značajan pad tlaka u odnosu na vrijednosti u fazi intrakranijske hipertenzije (p < 0.05). Iako je nakon intravenske primjene hiperosmolarne otopine manitola došlo do značajnog smanjenja IKT-a taj tlak je ostao značajno veći (p < 0,05) nego što je bio u kontrolnoj fazi.

U fazi cervikalne stenoze najvjerojatnije zbog isključenja kompenzacijske uloge spinalnog prostora IKT se odmah po izazivanju stenoze značajno povisio (p < 0.05) sa 17± 5,7 mmHg na $28,3 \pm 9,3$ mmHg. Ova faza ima slične vrijednosti tlaka kao i faza intrakranijske hipertenzije uz nešto veći medijan 27 ± 7.4 mmHg (raspon 21 - 30 mmHg). Primjena manitola nakon izazivanja stenoze dovela je do prolaznog malog (statistički neznačajnog) smanjenja IKT-a na 26.6 ± 5.6 mmHg nakon čega dolazi do postupnog porasta IKT-a kroz pola sata na vrijednosti od $32 \pm 4,1$ mmHg (p < 0,01). Friedmanov test pokazuje značajne razlike u vrijednostima IKT-a između pojedinih faza eksperimenta (p=0.00047). Wilcoxonov test za parne usporedbe pokazao je ključne razlike u fazi intrakranijske hipertenzije gdje je uočen značajno veći IKT u usporedbi sa svim ostalim fazama (p < 0.01). Hiperosmolarna otopina manitola značajno smanjuje IKT u fazi intrakranijske hipertenzije (p < 0.05) te ima neuočljiv učinak kod primjene nakon kontrolne faze no ima potpuno suprotni učinak (porast IKT-a) kod primjene nakon cervikalne stenoze. Dakle, naš novi model na svinjama pokazuje značajne promjene IKT u patofiziološki različitim fazama pokusa (u kontroli, pri akutnom porastu IKT izazvanog balonom u epiduralnom krajinskom prostoru pri akutnom porastu IKT uslijed izazvane cervikalne stenoze, te nakon primjene hiperosmolarne otopine manitola u svim ranije spomenutim fazama). Stoga smo na ovom kompleksnom modelu invazivnom i neinvazivnom tehnikom te ultrazvukom pratili promjene IOT-a i pojedinih anatomskih struktura unutar očne duplje pri promjenama IKT-a.

5.2. Intraokularni tlak tijekom pojedinih faza pokusa



Slika 20. Točke prikazuju prosječne vrijednosti intraokularnog tlaka (IOT; mmHg) mjerenog invazivnom tehinkom (IIOT; crna linija) i neinvazivnom tehnikom (NIOT; crvena linija) kroz različite faze pokusa okomite linije predstavljaju standardnu devijaciju.

U kontrolnoj fazi, prosječne vrijednosti IIOT-a iznosile su $16,4 \pm 1,8$ mmHg (raspon 14-18 mmHg), dok su vrijednosti NIOT-a bile nešto niže, $15 \pm 3,4$ mmHg (raspon 11-20 mmHg). Iako su vrijednosti NIOT-a pokazivale nešto veću varijabilnost, obje metode mjerenja ukazuju na fiziološke granice intraokularnog tlaka bez statistički značajnih međusobnih odstupanja. Primjena manitola u kontrolnim uvjetima rezultirala je blagim (bez statističke razlike) smanjenjem oba tlaka najvjerojatnije zbog izravnog učinka hiperosmolarne otopine manitola na očnu vodicu. Naime pri primjeni manitola u kontrolnoj fazi nije bilo značajnijih promjena IKT-a koje bi se mogle potencijalno odraziti na IOT. Na Slici 20. se vidi kako je prosječna vrijednost IIOT-a bila $15,2 \pm 2,5$ mmHg (raspon 13-19 mmHg), dok je NIOT zabilježio sličnu vrijednost od 14,5 \pm 2,4 mmHg (raspon 12–19 mmHg), što predstavlja pad IOT za prosječno 2 mmHg.

U fazi intrakranijske hipertenzije zabilježene su slične vrijednosti IIOT-a kao u kontrolnoj fazi s prosječnom vrijednošću od $16 \pm 2,7$ mmHg (raspon 12–19 mmHg), dok je NIOT zabilježio nešto nižu prosječnu vrijednost od 14,7 ± 3,9 mmHg (raspon 8–20 mmHg). To ukazuje kako se akutni porast IKT-a ne prenosi na IOT. Primjena manitola u fazi intrakranijske hipertenzije nije dovela je do promjena IOT. Prosječne vrijednosti IIOT-a bile su 16,4 ± 4,7 mmHg (raspon 12–23 mmHg), dok su vrijednosti NIOT-a iznosile 15,2 ± 3,2 mmHg (raspon 12–19 mmHg). To ukazuje kako i značajni pad IKT-a izazvan primjenom hiperosmolarne otopine manitola nema utjacaja na visinu IOT-a.

U fazi cervikalne stenoze gdje je došlo do porasta IKT-a i do isključenja spinalne komponente kompezacije povišenog IKT-a, kod obje metode nije zabilježeno značajno povećanje vrijednosti intraokularnog tlaka. Prosječne vrijednosti IIOT-a iznosile su $16,2 \pm 3,8$ mmHg (raspon 10–20 mmHg), dok su vrijednosti NIOT-a bile vrlo slične, $16,3 \pm 2,9$ mmHg (raspon 12–20 mmHg). To dodatno pokazuje kako se akutne promjene IKT-a ne odražavaju na IOT. Primjena manitola u fazi cervikalne stenoze koja postupno povećava IKT (vidi Slika 19.) dovela je do blagog porasta IIOT-a na $18,4 \pm 5,5$ mmHg (raspon 12–27 mmHg), dok se NIOT nije značajnjije promijenio ($16 \pm 3,1$ mmHg). Analizom dobivenih rezultata, nije uočena značajna razlika između metoda mjerenja kroz različite faze, što ukazuje na njihovu usporedivost. Uz to, iz rezultata sa Slika 19. i 20. se čini kako IOT ne slijedi značajne akutne promjene IKT-a u pojedinim fazama pokusa.

5.3. Usporedba intrakranijskog te invazivno i neinvazivno mjerenog intraokularnog tlaka tijekom faza pokusa

Slika 21. prikazuje promjene u vrijednostima IKT-a (intrakranijski tlak), IIOP-a (invazivni intraokularni tlak) i NIOP-a (neinvazivni intraokularni tlak) kroz faze eksperimenta. Promatrajući delta vrijednosti u fazi intrakranijske hipertenzije zabilježena je značajna varijabilnost vrijednosti IKT-a s prisutnošću ekstremnih vrijednosti. Medijan ostaje blizu nule, što sugerira različit odgovor na izazivanje hipertenzije. Slično, u fazi stenoze uočava se povećana varijabilnost IKT-a osobito na pozitivnoj strani distribucije što sugerira povećanje IKT-a u fazi stenoze. Kombinacija manitola s fazama hipertenzija i cerviikalna stenoza značajno smanjuje varijabilnost te broj ekstremnih vrijednosti što sugerira potencijalno stabilizirajući učinak manitola na IKT.

Promatrajući IIOT u svim fazama istraživanja, delta vrijednosti manje su varijabilne u usporedbi s IKT-om. Iznimno, u fazi intrakranijske hipertenzije uočava se blago povećanje delta vrijednosti, uz nekoliko ekstremnih vrijednosti. U slučaju primjene manitola u fazama istraživanja hipertenzija i stenoza primjećuje se dodatno smanjenje varijabilnosti, sugerirajući na učinak manitola kao terapije u smanjenju IKT-a. NIOT pokazuje visoku stabilnost kroz sve faze istraživanja, s minimalnim interkvartilnim rasponom i odsutnošću ekstremnih vrijednosti. Medijan ostaje blizu nule, ukazujući na relativnu nepromjenjivost NIOT bez obzira na faze istraživanja, kao i primjenu manitola.

U fazama istraživanja hipertenzija i stenoza uočavaju se značajne promjene u IKT-u. Uvođenjem manitola u fazama istraživanja hipertenzija te stenoza dolazi do smanjenja varijabilnosti i ekstremnih vrijednosti IKT-a, dok IIOT i NIOT ostaju stabilni kroz sve faze istraživanja.



Slika 21. Delta simbolizira promjenu ili razliku u vrijednostima. U ovom kontekstu, prikazuje koliko se vrijednost određene varijable (IKT, *IIOT I NIOT*) promijenila u odnosu na referentnu vrijednost kroz različite faze pokusa.

5.4. Promjene promjera očnog živca i njegove ovojnice tijekom faza pokusa

5.4.1. Promjene promjera očnog živca

Promjene očnog živca i njegove ovojnice smo tijekom pokusa pratili UZV pretragom u različitim vremenskim točkama (vidi poglavlje 4. Materijal i metode) (Slika 22.).

U kontrolnoj fazi, prosječna vrijednost promjera ON-a bila je $3,37 \pm 0,1$ mm (raspon 3,3-3,6 mm). Ove vrijednosti ukazuju na fiziološku veličinu optičkog diska u uvjetima bez ikakvih intervencija. Varijabilnost je minimalna, s uskim intervalom pouzdanosti. Pola sata po primjeni manitola, prosječna vrijednost ON-a iznosila je $3,3 \pm 0,1$ mm (raspon 3,2-3,4 mm). U

usporedbi s kontrolnom fazom, dolazi do blagoga, ali statistički neznačajnog smanjenja promjera optičkog diska.



Slika 22. Prikaz vrijednosti promjera očnog živca (ON, izraženog u mm). Točke na grafu predstavljaju pojedinačne vrijednosti ON izmjerene u različitim fazama pokusa (kontrola, manitol, IKH, IKH + manitol, CS, CS + manitol). Deblja horizontalna linija u svakom okviru prikazuje medijan, dok pravokutnik obuhvaća interkvartilni raspon 25 – 75 % vrijednosti ON.

Vertikalne tanke crte iznad i ispod svakog pravokutnika prikazuju raspon vrijednosti. Statistička analiza (ANOVA) nije pokazala statistički značajnu razliku između različitih faza pokusa (F(5,20) = 1.55, p = 0.22, $\eta g 2=0.17$ \eta_ $g^2 = 0.17\eta g 2=0.17$).

Faza intrakranijske hipertenzije pokazala je najveću varijabilnost u vrijednostima promjera ON-a. Prosječna vrijednost iznosila je $3,5 \pm 0,3$ mm (raspon 3,2 - 3,9 mm). Ove vrijednosti ukazuju na blago povećanje promjera optičkog diska u uvjetima povišenja IKT-a, no to povećanje nije bilo statistički značajno. Primjena manitola u fazi edema rezultirala je smanjenjem promjera ON-a na prosječnu vrijednost od $3,3 \pm 0,1$ mm (raspon 3,2 - 3,5 mm).

Ovaj rezultat sugerira djelomično ublažavanje hipertenzije i stabilizaciju stanja, s vrijednostima bliskim onima zabilježenim u kontrolnim uvjetima.

U fazi cervikalne stenoze, prosječna vrijednost promjera ON-a bila je $3,4 \pm 0,2$ mm (raspon 3,2 - 3,7 mm). Iako je zabilježena blaga varijabilnost, vrijednosti su ostale unutar fizioloških granica i nisu značajno odstupale od kontrolnih uvjeta. Primjena manitola u ovoj fazi rezultirala je blagim povećanjem promjera ON-a na $3,4 \pm 0,3$ mm (raspon 3,1 - 3,9 mm). Analiza varijance F(5,20) = 1.55, p = 0,22) nije pokazala značajne razlike između faza eksperimenta. Ovo sugerira da promjer optičkog diska ostaje relativno stabilan u različitim eksperimentalnim uvjetima, uz minimalna odstupanja u fazama hipertenzije i stenoze.

5.4.2. Promjene promjera ovojnice očnog živca

U kontrolnoj fazi, prosječna vrijednost promjera ONS-a bila je $5,5 \pm 0,2$ mm (raspon 5,3 - 5,8 mm). Ove vrijednosti predstavljaju fiziološke uvjete bez intervencija, uz minimalnu varijabilnost između uzoraka. Nakon primjene hiperosmolarne otopine manitola, prosječna vrijednost ONS-a bila je nešto niža i iznosila je $5,4 \pm 0,2$ mm (raspon 5,1 - 5,7 mm). Ovo smanjenje, iako minimalno, ukazuje na potencijalni učinak manitola na smanjenje volumena likvora u perioptičkom prostoru unutar optičke ovojnice (Slika 23.).

Faza intrakranijske hipertenzije u usporedbi s ostalim fazama pokazala je značajan porast promjera ONS-a, s prosječnom vrijednošću od $6,4 \pm 0,4$ mm (raspon 5,6 - 6,8 mm). Ova promjena ukazuje na povećanje intrakranijalnog tlaka koji se reflektira na širenje optičke ovojnice vjerojatno zbog dolaska dijela volumena likvora iz kranija u perioptički prostor. Sukladno tome primjena manitola u fazi intrakranijske hipertenzije dovela je do smanjenja IKT-a i do smanjenja promjera ONS-a na prosječnu vrijednost od $5,77 \pm 0,61$ mm.

Budući da postavljanje cervikalne stenoze dovodi do isključenja spinalnog prostora, perioptički ostaje kao jedini veći kompenzacijski prostor intrakranijske šupljine. Stoga se uočava kako odmah nakon postavljanja CS-a dolazi do statistički značajnog proširenja ONS-a $6,2 \pm 0,5$ mm (raspon 4,74–6,48 mm) u odnosu na prethodnu fazu. Primjena hiperosmolarne otopine manitola u ovoj fazi rezultirala je dodatnim blagim proširenjem perioptičkog prostora i povećanjem promjera ONS-a u usporedbi s fazama kontrola i IKH + manitol, s prosječnom vrijednošću od $6 \pm 0,4$ (raspon 5,5 – 6,6 mm) što je najvjerojatnije posljedica dodatnog porasta IKT-a i preseljenja dijela volumena likvora iz kranija u perioptički prostor.



Anova, F(5,20) = 7.73, p = 0.00034, $\eta_1^2 = 0.46$

pwc: T test; p.adjust: None

Slika 23. Točke na grafu predstavljaju pojedinačne vrijednosti promjera ovojnice optičkog živca - ONS (mm) izmjerene u različitim fazama pokusa (kontrola, manitol, IKH, IKH + manitol, CS, CS + manitol). Deblja horizontalna linija u svakom okviru prikazuje medijan, dok pravokutnik obuhvaća interkvartilni raspon. Vertikalne tanke crte iznad i ispod svakog pravokutnika prikazuju raspon vrijednosti. Statistička analiza (ANOVA) pokazala je statistički značajne razlike između pojedinih faza pokusa (F(5,20) = 7.73, p = 0.00034, ng2=0.46\eta_g^2 = 0.46ng2=0.46). Tanke horizontalne linije iznad grafa označavaju grupe između kojih je pronađena značajna razlika (**p* < 0.05; ***p* < 0.01).

5.4.3. Histopatološka analiza bulbusa i očnog živca

Iz dostavljenih uzoraka očnih jabučica sa pripadajućim očnim živcem koje su prethodno bile pohranjene u 10 %-tnoj otopini formalina učinjeni su histopatološki preparati koji su zatim bojani hematoksilin eozinom. Mikroskopska pretraga provedena je na 12 očnih živaca. U svim uzorcima, multifokalno je između snopova živčanih vlakana očnog živca uočen edem koji je bio slabijeg do umjerenog stupnja (Slika 24.). Kod jedne jedinke, uočen je i slabiji perivaskularni edem u endoneuriju, a kod jedne je edem je bio izraženiji na očnom živcu lijevog oka u odnosu na desni očni živac. U vezivnom i masnom tkivu perineuralno uočen je vrlo oskudan infiltrat koji se sastojao od nešto limfocita i pokojeg neutrofila.



Slika 24. Mikroskopski prikaz očnog živca (podužni presjek). Multifokalno se između snopića živčanih vlakana (crne strelice) uočava edem umjerenog stupnja. HE, 20x.

5.5. Promjene ostalih ultrazvučnih varijabli tijekom faza pokusa

Osim promjena na očnom živcu i njegovoj ovojnici, tijekom različitih faza pokusa pratili smo i promjene ostalih struktura očne jabučice. Tako smo bilježili podužnu os očne jabučice (AGL), dubinu prednje očne sobice (1- POS) i dubinu vitreusa (1-VITR).

5.5.1. Promjene podužne osi očne jabučice (AGL)

Slika 25. prikazuje analizu vrijednosti AGL (mm) u različitim fazama istraživanja. Provedenom statističkom analizom nije zabilježena statistički značajna razlika između faza istraživanja (p = 0,02). Promatrajući vrijednosti medijana, vriijednosti AGL-a ostaju relativno stabilne kroz većinu faza istraživanja, bez značajnih odstupanja između faza.

U fazama istraživanja kontrola i manitol vrijednosti AGL-a smatraju se stabilnima (16,9 mm \pm 0,6; 16,3 – 18 mm). U fazi intrakranijska hipertenzija, medijan AGL-a iznosi 16,8 mm, ali se povećava standardna devijacija na 0,7 mm, s rasponom od 15,8 do 18 mm. Primjena manitola u nakon izazvane intrakranijska hipertenzija značajno smanjuje varijabilnost (16,6 \pm 0,7 mm; 15,9 – 18 mm).

U fazi cervikalne stenoze, distribucija vrijednosti AGL-a (mm) slična je vrijednostima u kontroli, ukazujući na stabilnost AGL vrijednosti (16.8 ± 0.7 mm).



Slika 25. Točke na grafu predstavljaju pojedinačne vrijednosti duljine podužne osi očne jabučice - AGL (mm) izmjerene u različitim fazama pokusa (kontrola, manitol, IKH, IKH + manitol, CS, CS + manitol). Deblja horizontalna linija unutar svakog okvira predstavlja medijan, dok pravokutnik prikazuje interkvartilni raspon. Tanke vertikalne linije iznad i ispod pravokutnika označavaju ukupni raspon vrijednosti bez ekstremnih točaka, koje su zasebnim točkama prikazane izvan ovog raspona.

5.5.2. Promjena dubine očne sobice (POS)

Slika 26. prikazuje analizu vrijednosti POS (prednja očna sobica, mm) u različitim fazama istraživanja. Analizom varijance nije utvrđena značajna razlika između faza (p = 0,11), iako vrijednost eta kvadrata (η g2=0,25) ukazuje na umjeren učinak veličine između faza. Promatranjem vrijednosti medijana i raspona podataka, primijećuju se određene promjene i obrasci u pojedinim fazama.



Slika 26. Prikaz promjena vrijednosti dubine prednje očne sobice (POS, izraženog u mm) kroz faze pokusa.

U fazi kontrola, medijan vrijednosti POS-a iznosi 1,7 mm, uz standardnu devijaciju 0,1 mm (raspon: 1,5 - 2 mm). Vrijednosti su stabilne s malim rasponom varijabilnosti i bez ekstremnih vrijednosti, što ukazuje na homogenu distribuciju u ovoj fazi. Nakon aplikacije manitola, vrijednosti su slične kontrolnoj fazi, s uskim rasponom i manjom varijabilnošću. Medijan POS-a iznosi 1,7 mm, uz standardnu devijaciju 0,1 mm (raspon: 1,6 - 1,7 mm).

U fazi intrakranijska hipertenzija, medijan POS-a iznosio je 1,7 mm, uz standardnu devijaciju 0,2 mm (raspon: 1,6-2 mm). U ovoj fazi dolazi do povećanja varijabilnosti i pojave viših ekstremnih vrijednosti, što sugerira individualne razlike u reakciji na izazivanje hipertenzije kod istraživanih životinja. Aplikacijom manitola, uočava se smanjenje vrijednosti medijana i varijabilnosti. Medijan POS-a iznosi 1,5 mm, uz standardnu devijaciju 0,1 mm (1,3 – 1,7 mm).

Tijekom faze cervikalna stenoza, medijan POS-a iznosi 1,6 mm, uz standardnu devijaciju 0,2 mm (1,4 – 1,8 mm). Distribucija podataka pokazuje relativnu stabilnost, s nešto širim rasponom u odnosu na kontrolu. Nakon aplikacije hiperosmolarne otopine manitola, medijan POS-a iznosi 1,7 mm, uz standardnu devijaciju 0,1 mm (1,5 – 1,7 mm). Vrijednosti nakon aplikacije manitola, pokazuju manju varijabilnost u odnosu na fazu cervikalne stenoze, ali prisutnost izoliranih viših vrijednosti ukazuje na individualne reakcije životinja.

5.5.3. Promjene dubine vitreusa (L- VITR) tijekom faza pokusa

Slika 27. prikazuje analizu vrijednosti VITR (dubina vitreusa, mm) u različitim fazama istraživanja. Analizom varijance, nije zabilježena statistički značajna razlika između faza (p = 0,13), dok niska vrijednost eta kvadrata (η g2=0,06) ukazuje na slab učinak veličine između faza. Promatrajući vrijednosti medijana i raspona podataka, uočava se nekoliko specifičnih promjena između faza.



Slika 27. Prikaz promjena vrijednosti dubine vitreusa (VITR, u mm) kroz faze pokusa.

U fazi kontrola, medijan vrijednosti vitreusa iznosi 8,8 mm, uz standardnu devijaciju 0,5 mm (raspon: 8,1 – 9,5 mm). Vrijednosti su relativno stabilne, s manjim rasponom i bez izraženih ekstremnih vrijednosti, što ukazuje na homogenost u ovoj fazi. Nakon aplikacije hiperosmolarne otopine manitola, medijan vitreusa iznosi 8,7 \pm 0,6 mm (7,9 – 9,4 mm). Vrijednosti pokazuju nešto veću varijabilnost u odnosu na kontrolu, ali medijan ostaje stabilan.

U fazi IKH, medijan vitreusa iznosi 8.7 ± 0.6 mm (raspon: 8 - 9.5 mm). Distribucija podataka ukazuje na povećanje varijabilnosti u odnosu na kontrolu i manitol, s nekoliko ekstremnih vrijednosti na višem i nižem kraju raspona. Aplikacijom manitola, uočava se da vrijednosti pokazuju nešto veću varijabilnosti. Medijan vitreusa iznosi 8.6 ± 0.7 mm (7.8 - 9.6 mm). Tijekom faze cervikalna stenoza, medijan vitreusa iznosi 8.5 ± 0.6 mm, (7.4 - 9.2mm). Vrijednosti pokazuju relativnu stabilnost s manjim brojem ekstremnih vrijednosti. Aplikacijom hiperosmolarne otopine manitola, medijan vitreusa iznosi 8.6 ± 0.8 mm, (7.3 - 9.6 mm). Ovo je faza s najvećom varijabilnošću podataka, što sugerira individualne reakcije životinja na kombinaciju cervikalne stenoze i primjene manitola.

6. RASPRAVA

U ovom istraživanju cilj je bio ispitati povezanost intrakranijskog i intraokularnog tlaka te njihov međusobni utjecaj. U literaturi postoje oprečni podaci o povezanosti intraokularnog tlaka s IKT za koje pretpostavljamo da su rezultat različitih metodologija mjerenja tih dvaju tlakova.

Lashutka i suradnici (2005.) u svom istraživanju sugeriraju da je IOT izvrstan pokazatelj abnormalnog IKT-a kod pacijenata s poznatim intrakranijalnim patološkim stanjima, temeljeći svoje tvrdnje na značajnim korelacijama između IOT-a i IKT-a. Suprotno tome, Czarink i sur. (2009.) u svom istraživanju ističu da promjene u IOT-u nisu dobar prediktor promjena IKT-a te da porast IKT-a ne utječe na IOT.

Razlozi za ove kontradiktorne podatke mogli bi biti povezani s metodologijoom mjerenja cerebrospinalnog tlaka (CST) i IOT-a. Naime, kod pacijenata se IKT mjeri invazivnom metodom, dok se IOT mjeri neinvazivnom metodom. U ranijim istraživanjima na mačkama u modelu koji su razvili Klarica i sur. (2016.) IKT i IOT mjereni su identičnom invazivnom metodom, s mjernim pretvaračima postavljenim na istu referentnu točku i na istoj odgovarajućoj hidrostatnoj razini. Na tom modelu se pokazalo kako akutne promjene IKT uzrokovane promjenom položaja tijela i glave nisu povezane s promjenama IOT.

Rezultati dobiveni u ovom istraživanju u skladu su s postavljenom hipotezom jer se usporedbom rezultata mjerenja IKT-a i IOT-a u svim fazama eksperimenta (kontrola, hipertenzija i cervikalna stenoza, aplikacije hiperosmolarne otopine manitola), ne uočava izravna povezanost (Slika 19. i Slika 20.). U fazi intrakranijske hipertenzije koju smo izazvali postavljanjem Foleyevog katetera u epiduralni prostor došlo je do značajnog povećanja IKT-a na 28,75 ± 11,96 mmHg s rasponom od 4 do 66 mmHg dok su u istoj fazi, vrijednosti IIOT-a bile jednake onima u kontrolnoj fazi s prosječnom vrijednošću od 16 ± 2,74 mmHg (raspon 12–19 mmHg) (Slika 20.). Faza opstrukcije ima slične vrijednosti tlaka kao i faza intrakranijske hipertenzije uz nešto veći medijan 27 ± 7,41 mmHg (raspon 21 – 30 mmHg) dok kod obje metode mjerenja intraokularnog nije zabilježeno njegovo značajno povećanje (Slika 20. i Slika 21.). Prosječne vrijednosti IIOT-a iznosile su 16,2 ± 3,77 mmHg (raspon 10–20 mmHg), dok su vrijednosti NIOT-a bile vrlo slične, 16,33 ± 2,88 mmHg (raspon 12–20 mmHg). Kad se promjene IKT-a i IIOT-a prikažu zajedno na istoj slici (Slika 28.) jasno se vidi kako tijekom faza pokusa usprkos značajnim akutnim promjenama IKT ne dolazi do statistički značajnih promjena IIOT-a. Dakle, dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem Klarica i suradnika (2016.) koje sugerira da nema linearnog odnosa između IKT-a i IOT-a najvjerojatnije zbog fizioloških barijera i različite regulacije tlakova tekućina u ova dva prostora. U ranije spomenutom istraživanju na mačkama u kojima je praćena akutna korelacije očnog i intrakranijskog tlaka kod promjena položaja tijela nisu praćeni drugi parametri stanja pojedinih struktura oka koji bi mogli biti posljedica i nekog neizravnog učinka kao što je npr. ometanje krvne cirkulacije oka (slabija perfuzija, otežana venska drenaža) uslijed različitih načina uz koje je došlo do značajnih promjena IKT-a. Stoga, ovaj naš novi model donosi novi uvid u međusobni odnos IKT i IOT koji je puno bliži onom kod bolesnika s povišenim IKT-om.



Slika 28. Slika prikazuje promjene IKT (mmHg) i IIOT (mmHg) kroz sve faze pokusa. Plava linija označava srednje vrijednosti IKT- a, dok narančasta linija označava srednje vrijednosti IIOT-a. Plavo i narančasto polje oko srednjih vrijednosti prikazuju standardnu devijaciju. IKT pokazuje izražene oscilacije, posebno tijekom faze IKH, dok IIOT ostaje relativno stabilan kroz sve faze.

6.1. Pokusni model za brzi porast tlaka likvora u svinja

U svrhu ispitivanja utjecaja IKT-a na IOT razvili smo model akutnog povišenja IKT-a postavljanjem Foleyevog katetera u parijetalni epiduralni prostor kroz otvor u kosti (7 mm lateralno i 10 mm posteriorno od bregme; Slika 11.). Nakon postavljanja katetera, balon katetera je postupno kroz 2 minute punjen ručno primjenom 3 mL fiziološke otopine. Na taj način, fokalno smo povećanjem mase unutar kranija izazvali porast IKT-a sa fizioloških 12,2 \pm 2,5 mmHg na vrlo visoke vrijednosti (39,8 mmHg; Slika 19.). Tijekom perioda stabilizacije, u idućih 15 minuta, tlak se stabilizirao na vrijednosti tlaka od 25,2 \pm 3,2 mmHg iz čega je vidljivo da je u ovom modelu na ranije opisan način moguće izazvati dugotrajnu intrakranijsku hipertenziju u svih životinja.

U literaturi se mogu pronaći slični modeli intrakranijske hipertenzije (ANDRADE i sur., 2013.; RAMIREZ de NORIEGA i sur., 2018.; JENG i sur., 2021.; CIARROCCHI i sur., 2022.). Model koji je korišten pri izradi ovog rada najsličniji je modelu Jeng i sur.(2021.) i Ciarrocchi i sur. (2022.) koji su također postavili kateter s balonom epiduralno, no kod njih je porast tlaka izazivan reverzibilno. Jeng i sur. (2021.) su jedinke podjelili po grupama te su im infiltrirali različite količine fiziološke otopine u balon (3 mL, 4 mL, 3 + 4 mL) ovisno o skupini te su balone ovisno o fazi pokusa deflacionirali najčešće sat vremena nakon izazivanja edema. Ciarrocchi i sur. (2022.) su porast tlaka izazivali primjenom 4 i 5 mL fiziološke otopine u balon kroz 5 minuta no također reverzibilno. Za potrebe ovog istraživanja, bilo je potrebno dugotrajnije izazivanje intrakranijske hipertenzije kako bi se bolje uočile promjene na živcu i ovojnici. Andrade i sur. (2013.) su u svom modelu koristili sličan mehanizam punjenja balona kao Jeng i sur., ali je kod njih kateter s balonom bio postavljen u parijetalni režanj u sam parenihm mozga radi čega ovakav model nije bio prihvatljiv jer bi mogao dovesti do prekida komunikacije između komora i subarahnoidnog prostora (ANDRADE i sur., 2013.).

Kedar i sur. (2021.) su također u svom istraživanju pratili morfologije promjena optičkog živca i ovojnice te intraokularnog tlaka na modelu intrakranijske hipertenzije, no oni su hipertenziju izazivali lumbarnom punkcijom i infuzijom otopine, a intraokularni tlak su mjerili samo neinvazivnom metodom (KEDAR i sur., 2021.).

Prednost modela korištenog u ovom istraživanju je što smo i intraokularni i intrakranijski tlak mjerili invazivnom metodom. Intraokularni tlak je mjeren izravnom kanulacijom prednje očne sobice (vidi Materijal i metode) dok je životinja ležala u sternalnom položaju (engl. *prone position*). U tom položaju, srednju liniju koja prolazi kroz očnu jabučicu se podudara i s interauralnom linijom koja služi kao baždarna točka za određivanje intrakranijskog tlaka te su oba tlaka baždarena na zajedničku početnu vrijednost slično istraživanju Klarice i sur. (2016.) na mačkama.

Za razliku od svih nabrojenih modela naš novi model omogućava kako brzi porast IKT, tako i brzi pad pri uobičajenoj terapiji povišenog IKT i.v. primjenom hiperosmolarne otopine manitola. Osim toga, u našem modelu se na kraju pokusa eksperimentalnim izazivanjem cervikalne stenoze isključuje spinalni subarahnoidni prostor koji predstavlja značajni kompenzacijski prostor pri povišenju IKT.a. Ponovno se u ovoj fazi primjenjuje manitol kako bi se dobilo uvid u učinak na IOT i strukture oka pri ovom novom patofiziološkom stanju koje do sada nikad nije testirano na IKT-u i IOT-u.

6.2. Ispitivanje učinka intrakranijskog tlaka na promjene morfoloških karakteristika očnog živca i njegove ovojnice

Brojna dosadašnja istraživanja pokazala su da promjer ovojnice optičkog živca (ONS) korelira s promjenama intrakranijskog tlaka (IKT) (MAISSAN i sur., 2015.; DUBOURG i sur., 2011.; QAYUM i sur., 2013.; MIJA i sur., 2020.). Kod kritično bolesnih pacijenata relativne, ali ne apsolutne promjene IKT-a, mogu se pratiti uz krevet bolesnika pomoću ultrazvuka (DUBOURG i sur., 2013.; GEERAERTS i sur., 2008.). Hansen i suradnici proučavali su promjene ONS-a kod bolesnika koji su podvrgnuti testovima infuzije u lumbalni dio, gdje je tlak cerebrospinalne tekućine postupno povećavan, što je bilo povezano s linearnim povećanjem ONS-a (HANSEN i sur., 1997.).

Slične rezultate objavili su LAUNEY i sur., (2014.) u kojem su ispitivali utjecaj osmoterapije kod pacijenata s povišenim IKT-om. U njihovom istraživanju, veće promjene ONS-a uočene su pri IKT-u od 30 mmHg, nego pri višim tlakovima, a kao moguće objašnjenje navode prisutnost radijalno orijentiranih trabekula između pije mater optičkog živca i njegove

ovojnice, koje ograničavaju širenje ovojnice optičkog živca. Nedavno su Hansen i suradnici (2011.) izvijestili o nelinearnom povratku širine ONS-a nakon normalizacije IKT-a, što bi moglo odražavati posebna elastična svojstva perineuralnih struktura. Dosadašnja istraživanja nisu razlikovala promjene u promjeru optičkog živca (ON) i perineuralnog prostora (PNS) s rastućim IKT-om. Budući da je PNS subarahnoidna cisterna, pretpostavlja se da akutne promjene IKT-a proširuju taj prostor ispunjen likvorom. S druge strane, kapilare i venule unutar ON-a mogu postati kongestivne s rastom IKT-a, što također može dovesti do povećanja promjera ON-a.

U našem novom modelu, proučavajući promjer optičkog živca (ON) tijekom pojedinih faza pokusa, uočili smo da ne dolazi do njegovih značajnih promjena tijekom pokusa (Slika 22.). Pri izazivanju povišenog IKT-a dolazi do blagog povećanja koje nije statistički značajno, dok je u fazi opstrukcije promjer živca jednak onima iz kontrolne faze. Analiza varijance F(5,20) = 1.55, p=0,22) nije pokazala značajne razlike između faza eksperimenta. Ovo sugerira da promjer optičkog diska ostaje relativno stabilan u različitim eksperimentalnim uvjetima te nije pogodan za praćenje akutne dinamike tlakova. Dakle, u našem modelu izgleda da nije dolazilo do zastoja krvne cirkulacije kroz optički živac koji bi mogao dovesti do značajnijih promjena promjera.

Za razliku od promjera živca, praćanje promjena promjera ovojnice optičkog živca (ONS) u našem novom modelu uočene su statistički značajne razlike tijekom faza pokusa. U fazi porasta IKT-a došlo je i do statistički značajnog porasta promjera ONS-a (p < 0.01) (Slika 23.). Uz to je i.v. primjena hiperosmolarne otopine manitola u kontrolnoj fazi i u fazi porasta IKT-a dovela do smanjenja promjera ovojnice najvjerojatnije zbog izvlačenja tekućine iz likvorskog sustava (iz kranija, iz spinalnog prostora i iz perioptičkog prostora) što ukazuje na novi mehanizam djelovanja otopine manitola na visinu IKT-a. Naime, do sada se učinak otopine manitola objašnjavao kao posljedica osmotskog izvlačenja vode iz mozgovine ili dijelom kao posljedica smanjenja cerebralnog volumena krvi zbog vazokonstrikcije uzrokovane padom hematokrita (RAVUSSIN i ARCHER, 2000.; SCHROT i MUIZELAAR, 2002.). Tek su u novije vrijeme istraživanja Klarice i sur. (2019.) ukazala kako bi ključni mehanizam sniženja tlaka likvora kod primjene otopine manitola bio posljedica smanjenja volumena likvora i to prije svega u spinalnom prostoru. Rezultati našeg istraživanja na novom

modelu u svinja ukazuju kako bi i izvlačenje tekućine iz perioptičkog prostora također moglo pridonijeti rušenju IKT-a.

6.3. Učinak hiperosmolarne otopine manitola na IKT i IOT te širinu ovojnice očnog živca

Hiperosmolarna terapija smanjuje IKT na način da prvo dovodi do porasta osmolarnosti krvne plazme i smanjenja viskoznosti krvi, čime se poboljšava dostava kisika u mozak, što rezultira cerebralnom vazokonstrikcijom. Stvaranjem osmotskog gradijenta u krvi povlači se voda iz moždanog tkiva u intravaskularni prostor, čime se potiče venski drenažni protok i smanjuje IKT (HINSON i sur. 2013.). Učinak manitola na IKT počinje se očitovati unutar nekoliko minuta, a doseže svoj vrhunac i maksimalni učinak 30 minuta nakon primjene (JURJEVIĆ i sur., 2012.; SHAWKAT i sur., 2012.). U tom periodu od prvih 30 minuta nakon aplikacije manitola u mnogim eksperimentima nije opaženo sma njenje postotka vode u mozgovini niti smanjenje protoka krvi uslijed moguće vazokonstrikcije, što je dovelo u pitanje pravi mehanizam smanjenja IKT kod primjene manitola.

Prema dosadašnjim istraživanjima o učinku hiperosmolarne otopine manitola na oko čini se kako manitol djeluje na način da povisuje osmolalnost plazme što dovodi do osmotskog izvlačenja tekućine iz staklastog tijela u cirkulaciju uzrokujući njegovu dehidraciju (GALIN i sur., 1968.). Novija istraživanja koja su provedena na vitrektomiziranim očima pokazala su statistički značajno smanjenje IOT nakon primjene manitola što pokazuje da osmotsko uklanjanje vode iz vitrealne šupljine nije dominantni mehanizam smanjenja IOT (RAMACHANDRA i sur., 2018.). Zbog toga se smatra kako hiperosmolarne otopine djeluju osmotski ne samo osmotski na staklasto tijelo, nego i na očnu vodicu u prednjoj očnoj sobici Osim toga, pretpostavlja se kako postoji centralni mehanizam preko samih osmoreceptora u hipotalamusu kojim se smanjuje proizvodnja očne vodice. U oftalmologiji, sposobnost manitola da uspostavi osmotski gradijent preko krvno-očne barijere, potičući izlazak tekućine iz oka, čini ga privlačnom opcijom za regulaciju IOT-a (TURLIUC i sur., 2019.). Ovo je posebno relevantno u kirurgiji oka, gdje je održavanje IOT-a unutar optimalnih raspona ključno za sprječavanje komplikacija poput ablacije retine, krvarenja i oštećenja vidnog živca.

Iz svega gore navedenog, jasno je kako mehanizam djelovanja hiperosmolarne otopine manitola nije jasan niti kod IKH niti kod povišenog IOT-a. Rezultati našeg istraživanja donose nove spoznaje i dodatno rasvjetljavaju moguće mehanizme kako manitol regulira IKT i IOT.

Hiperosmolarna otopina manitola značajno smanjuje IKT u našem modelu u fazi intrakranijske hipertenzije (p < 0.05), dok je kranio-spinalna komunikacija normalna. Naime, prema hipotezi postavljenoj u radu Klarica i sur. (2019.) čini se kako manitol podizanjem osmolarnosti krvi najprije uzrokuje osmotsko navlačenje tekućine iz intersticija mozga i moždine u krvotok. Ta tekućina iz intersticija se odmah nadoknađuje iz likvorskog sustava budući da intersticij i likvor izravno komuniciraju. Postavlja se pitanje kako to da do sada istraživači nisu primjetili da dolazi do smanjenja volumena likvora nakon davanja otopine manitola u krv. Do sada se prilikom radiološkog oslikavanja u ovakvim eksperimentima uvijek pratila moguća promjena samo unutar kranija i nije se pratilo što se događa u spinalnom dijelu likvora (MARTINS i sur., 1972.; MASCALCHI i sur., 1988.). Prema opisanom mehanizmu u radu Klarice i sur. (2019.) ukazano je kako dominatno dolazi do smanjenja volumena likvora u spinalnom dijelu jer bi smanjenje volumena likvora u kraniju dovelo potencijalno do razvoja vakuuma što bifazički nije moguće.

Dok je kranio-spinalna komunikacija normalna, izvlačenje volumena likvora iz kranija se nadoknađuje iz spinalnog prostora (koji može mijenjati svoj volumen- elastičnost spinalne dure). U slučaju da dođe do prekida kranio-spinalne komunikacije kao što se dogodilo nakon postavljanja cervikalne stenoze u našem modelu, očekuje se prema toj hipotezi da bi u kraniju došlo do porasta IKT (hiperosmolarna krv nastoji ući u kranij koji sada nema dovoljan kompenzacijski prostor), te da likvorski tlak pada samo spinalno zbog izvlačenja likvora dominantno iz tog prostora koje je moguće uslijed elastičnosti spinalne dure.

Zanimljivo je da u fazi cervikalne stenoze, nakon primjene manitola, dolazi do i do uočljvog porasta IIOT-a koji nije statistički značajan (Slika 20. i Slika 28.). To ukazuje kako porast IKT-a uslijed nastojanja da veći volumen hiperosmolarne krvi uđe u krvotok kranija može dovesti do promjene IIOT-a (iako hiperosmolarna otopina potencijalno istodobno smanjuje volumen tekućine u oku – što bi trebalo dovesti do pada IIOT-a). Kod porasta IKT-a, u fazi cervikalne stenoze (opstrukcije kranio-cervikalne komunikacije ili isključenje kompenzacijske uloge spinalnog prostora), promjer ONS-a ostao povišen i postupno je rastao,

dok manitol nije imao utjecaj na njegovo smanjenje. Naime, IKT je nakon primjene manitola uz prekid kranio-spinalne komunikacije još više rastao što je bilo neočekivano, a to je promjer ONS pratio iako porast ONS promjera nije statistički bio značajan (Slika 23.). Čini se kako je u ovoj fazi perioptički prostor postao jedini kompenzacijski prostor porasta IKT-a i stoga je ONS rastao. Taj porast promjera ONS nije jako velik jer je proširenje vjerojatno blizu svog maksimuma.

6.4. Usporedba vrijednosti IIOT s vrijednostima in vivo oku svinje

Mjerenje IOT važan je dio oftalmološkog pregleda, no kod svinja se češće koristi u istraživačkom dijelu nego tijekom samog pregleda. Razlog tome je što se svinje u rijetkim slučajevima drže kao kućni ljubimci, a prilično često ih se koristi kao animalne modele za procjenu farmakokinetike i toksičnosti novih lijekova kao i za ispitivanje različitih patoloških stanja oka i terapijske učinke (RUIZ- EDERRA i sur., 2005.).

Najčešće korišteni uređaju za mjerenje IOT-a u veterinarskoj medicini su Tono-Pen Vet aplanacijski tonometar i TonoVet povratni (engl. *rebound*) tonometar (LÖBLER i sur., 2011.). Oba uređaja koriste se za procjenu IOT-a kod živih životinja različitih vrsta, a kod nekih je vrsta provedena detaljnija evaluacija ovih instrumenata, uključujući validaciju u usporedbi s manometrom (MILLER i sur., 1990.; KNOLLINGER i sur., 2005.). Iako su oba instrumenta korištena kod svinja, nijedan nije kritički evaluiran na očima svinja. Pregledom dosadašnje literature, optimalan uređaj za procjenu IOT-a kod svinja još uvijek nije dovoljno validiran i određen.

Lewin i suradnici (2016.) su proveli istraživanje na enukleiranim bulbusima svinja u kojem su utvrdili da je TonoVet povratni tonometar, koristeći postavku "d" za pse, preciznije procijenio stvarni intraokularni tlak (IOT) u *ex vivo* očima svinja nego Tono-Pen Vet ili verzija povratnog tonometra kalibrirana za ljudske oči. Ovo sugerira da bi povratni tonometar mogao biti tonometar izbora za ovu vrstu. Ograničenje istraživanja je svakako što je provedeno u *ex vivo* na uzorku od 4 bulbusa.

U našem istraživanju, proveli smo kalibraciju TonoVet uređaja na *in vivo* oku svinje mjereći neivazivno intraokularni tlak - NIOT kroz različite faze pokusa te uspoređujući dobivene vrijednosti s invazivnim mjerenjem intaokularnog tlaka koje je provedeno kanulacijom prednje očne sobice koja se smatra zlatnim standardom. Prema dobivenim rezultatima (Slika 20.), uočavamo da statistička analiza nije pokazala značajne razlike između metoda mjerenja kroz različite faze, što ukazuje na njihovu usporedivost. Ipak, invazivno mjerenje tlaka kanulacijom pokazuje nešto preciznije rezultate u uvjetima povećanog intraokularnog tlaka, dok povratna tonometrija prikazuje veću varijabilnost, osobito u fazama hipertenzije i cervikalne stenoze.

Zaključno, obje metode i invazivna i povratna tonometrija pokazuju slične trendove u mjerenju intraokularnog tlaka kroz sve faze eksperimenta. Unatoč manjim odstupanjima, obje metode pružaju pouzdane podatke zbog čega možemo zaključiti da je povratna tonometrija pogodan odabir za neinvazvno određivanje intraokularnog tlaka kod svinja u kliničkim pokusima.

Primjena povratne tonometrije tijekom oftalmološkog pregleda svinja, zahtijeva dodatnu validaciju u kliničkim uvjetima gdje su prisutni i drugi čimbenici. Ti čimbenici uključuju temperament i ponašanje životinje, utjecaj obuzdavanja na IOT, prisutnost abnormalnosti površine oka koje mogu izmijeniti performanse tonometra te moguće, pasminu ili spol životinje (LEUNG i sur., 2014.; LEWIN i sur., 2016.).

Osim toga, primjećeno je kako se suzni film na očima živih svinja ponaša kao da je viskozniji nego kod mnogih drugih vrsta, što povremeno uzrokuje privremeno prianjanje tonometra na površinu rožnice tijekom mjerenja. Ovo je posebno izraženo kod lakših i manje traumatičnih sondi povratnog tonometra, iako povećana viskoznost suznog filma također može značajno utjecati na mjerenja aplanacijske tonometrije (HOLEC-IWASKO i sur., 1990.; LEWIN i sur., 2016.). Prema našem iskustvu tijekom pokusa kako se to vidi i iz rezultata, mi smo ovu problematiku riješili aplikacijom umjetnih suza niske viskoznosti prije tonometrije. Dakle, naš novi model i način mjerenja IOT predstavljaju novi i značajan doprinos samoj metodologiji mjerenja IOT u svinja.

7. ZAKLJUČCI

Iz rezultata mjerenja IKT-a, IOT-a (invazivna i neinvazivna tehnika), te ultrazvučnim određivanjem pojedinih parametara stanja oka (AGL, 1-POS, 1-vitreus) i perioptičkih struktura (d-ON, d-ONS) dobivenih u kontrolnoj fazi, te u fazama porasta IKT insuflacijom epiduralnog balona i izazivanja cervikalne stenoze, kao i nakon IV primjene hiperosmolarne otopine manitola (10 %) u dozi od 1 g/kg u ovim fazama na novom modelu intrakranijske hipertenzije u svinja možemo zaključiti slijedeće:

- Novi model intrakranijske hipertenzije u svinja postavljanjem Foleyevog katetera epiduralno uz značajne promjene IKT-a izazvane aplikacijom otopine manitola i prekidanjem kraniocervikalne komunikacije postavljanjem cervikalne stenoze predstavlja dobar model na kojem se može istraživati međudjelovanje IKT-a i IOT-a, jer u takvom modelu u relativno kraćem vremenu dolazi do značajnih oscilacija IKT-a u različitim patofiziološkim okolnostima.
- Akutne značajne promjene IKT-a (bilo porast bilo pad) ne odražavaju se na IOT. To ukazuje kako se preko promjena IOT ne može zaključivati što se događa sa IKT-om u akutnim stanjima.
- Intravenska primjena hiperosmolarne otopine manitola u slučaju slobodne kraniospinalne komunikacije u kontrolnoj fazi ne dovodi do sniženja IKT-a, no uočavamo blagi pad IOT što je vjerojatno posljedica izravnog učinka manitola na volumene očne vodice, pojedinih očnih (l-vitreus) i perioptičkih (d-ONS, d-ON) struktura.
- 4. U fazi porasta IKT-a uočili smo statistički značajno proširenje d-ONS, dok su drugi mjereni parametri imali samo blage promjene. Nadalje, d-ONS se značajno i smanjio nakon primjene manitola u fazi kad je IKT značajno pao. To ukazuje kako d-ONS u našem modelu relativno dobro odražava promjene IKT-a te da hiperosmolarna otopina manitola dovodi i do izvlačenja likvora iz perioptičkog prostora.
- 5. U slučaju prekida kraniospinalne komunikacije, te isključenja spinalnog kompenzacijskog prostora, primjena otopine manitola dovodi do daljnjeg rasta IKT-a što je suprotno normalno očekivanom. To ukazuje na važno kliničko značenje slobodne kraniospinalne

komunikacije, te objašnjava zašto u slučaju patoloških lezija koje bi mogle otežati kraniospinalnu komunikaciju ne smijemo primijeniti terapiju hiperosmolarnim otopinama.

6. Nakon postavljanja cervikalne stenoze uočavamo statistički značajno povećanje d-ONS što ukazuje kako je perioptički prostor djelomično preuzeo ulogu kompenzacijskog prostora. Primjena manitola nakon cervikalne stenoze dovela je do blagog porasta d-ONS što dodatno ukazuje kako taj prostor odražava promjene tlaka i volumena likvora u kraniju.

8. LITERATURA

BÄHR, A., E. WOLF (2012): Domestic animal models for biomedical research. Reprod. Domest. Anim. 47, 59–71. doi: 10.1111/j.1439-0531.2012.02056.x

BALLANTYNE, S. A., G. O'NEILL, R. HAMILTON, A. S. HOLLMAN (2002): Observer variation in the sonographic measurement of optic nerve sheath diameter in normal adults. Eur. J. Ultrasound 15, 145–149. doi: 10.1016/s0929-8266(02)00036-8

BALARATNASINGAM, C., W. H. MORGAN, V. JOHNSTONE, S. S. PANDAV, S. J. CRINGLE, et al. (2009): Histomorphometric measurements in human and dog optic nerve and an estimation of optic nerve pressure gradients in human. Exp. Eye Res. 89, 618–628. doi: 10.1016/j.exer.2009.06.002

BERING, E. A. Jr. (1955): Choroid plexus and arterial pulsation of cerebrospinal fluid; demonstration of the choroid plexuses as a cerebrospinal fluid pump. AMA Arch. Neurol. Psychiatry 73, 165-172. doi: 10.1001/archneurpsyc.1955.02330080043012

BERLIN, T., C. MURRAY-KREZAN, H. YONAS (2015): Comparison of Parenchymal and Ventricular Intracranial Pressure Readings Utilizing a Novel Multi-Parameter Intracranial Access System. SpringerPlus 4, 10.

doi: 10.1186/2193-1801-4-10

BETTER, O. S., I. RUBINSTEIN, J. M. WINAVER, et al. (1997): Mannitol therapy revisited (1940–1997). Kidney Int. 52, 886–894. doi: 10.1038/ki.1997.409

BHATIA, A., A. K. GUPTA (2007): Neuromonitoring in the intensive care unit. I. Intracranial pressure and cerebral blood flow monitoring. Intensive Care Med. 33, 1263–1271. doi: 10.1007/s00134-007-0678-z

BILL, A., C. I. PHILLIPS (1971): Uveoscleral drainage of aqueous humour in human eyes.Exp. Eye Res. 12, 275–281.doi: 10.1016/0014-4835(71)90149-7

BLAND, J. M., D. G. ALTMAN (1986): Statistical Methods for Assessing Agreement between Two Methods of Clinical Measurement. Lancet Lond. Engl. 1, 307–310. doi: 10.1016/S0140-6736(86)90837-8

BOTHWELL, S., D. JANIGRO, A. PATABENDIGE (2019): Cerebrospinal fluid dynamics and intracranial pressure elevation in neurological diseases. Fluids Barriers CNS 16(1), 1–8. doi: 10.1186/s12987-019-0129-6

BOYE, D., M. MONTALI, N. R. MILLER, A. PIRCHER, P. GRUBER, H. E. KILLER, et al. (2018): Flow dynamics of cerebrospinal fluid between the intracranial cavity and the subarachnoid space of the optic nerve measured with a diffusion magnetic resonance imaging sequence in patients with normal tension glaucoma. Clin. Exp. Ophthalmol. 46, 511–518. doi: 10.1111/ceo.13116

BRATTON, S., R. CHESTNUT, J. GHAJAR, F. H. MCCONNELL, O. HARRIS, R. HARTL, et al. (2007): Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. VI. Indications for intracranial pressure monitoring. J. Neurotrauma 24, S37–S44. doi: 10.1089/neu.2007.9990.

BRODBELT, A., M. STOODLEY (2007): CSF pathways: a review. Br. J. Neurosurg. 21, 510-520. doi: 10.1080/02688690701447420

BULAT, M. (1993): Dynamics and statics of the cerebrospinal fluid: the classical and a new hypothesis. In: Intracranial Pressure VIII. Avezaat, C. J., van Eijndhoven, J. H., Maas, A. I., Tans, J. T. (eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 726-730.

BULAT, M., KLARICA, M. (2011): Recent insights into a new hydrodynamics of the cerebrospinal fluid. Brain Res. Rev. 65, 99-112. doi: 10.1016/j.brainresrev.2010.08.002

BULAT, M., LUPRET, V., OREHKOVIĆ, D., KLARICA, M. (2008): Transventricular and transpial absorption of cerebrospinal fluid into cerebral microvessels. Coll. Antropol. 32, 43-50.

CANAC, N., JALALEDDINI, K., THORPE, S. G., COOK, D. J., YOSHIDA, K., HAMILTON, R. B., MOUSSAVI, Z. M. K. (2020): Review: Pathophysiology of intracranial hypertension and noninvasive intracranial pressure monitoring. Fluids Barriers CNS 17, 40. h doi: 10.1186/s12987-020-00201-8

CANTRILL, H.L., J.E. PEDERSON (1982): Experimental retinal detachment: III. Vitreous fluorophotometry. Arch. Ophthalmol. 100, 1810–1813. doi: 10.1001/archopht.1982.01030040790016

CANTRILL, H.L., J.E. PEDERSON (1984): Experimental retinal detachment: VI. The permeability of the blood-retinal barrier. Arch. Ophthalmol. 102, 747–751. doi: 10.1001/archopht.1984.01040030595029

CHEN, H., A.J. WEBER (2001): BDNF enhances retinal ganglion cell survival in cats with optic nerve damage. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 42, 966–974. PMID: 11274073

CHESNUT, R. M., T. P. BLECK, G. CITERIO, J. CLASSEN, D. J. COOPER, W. M. COPLIN, M. N. DIRINGER, P. O. GRANDE, J. C. HEMPHILL III, P. J. HUTCHINSON, et al. (2015): A consensus-based interpretation of the benchmark evidence from South American trials: treatment of Intracranial Pressure Trial. J. Neurotrauma 32, 1722–1724. doi: 10.1089/neu.2015.3976

CHOI, K-E., ET AL. (2021): Normative data of axial length, retinal thickness measurements, visual evoked potentials, and full-field electroretinography in female, wild-type minipigs. Transl. Vis. Sci. Technol. 10, 3. doi: 10.1167/tvst.10.12.3

CIVAN, M.M. (2008): Formation of the aqueous humor: Transport components and their integration. Curr. Top. Membr. 62, 1–45. doi: 10.1046/j.1440-1681.2000.03208.x

CNOSSEN, M. C., J. A. HUIJBEN, M. VAN DER JAGT, V. VOLOVICI, T. VAN ESSEN, S. POLINDER, D. NELSON, A. ERCOLE, N. STOCCHETTI, G. CITERIO, et al. (2017): Variation in monitoring and treatment policies for intracranial hypertension in traumatic brain injury: a survey in 66 neurotrauma centers participating in the CENTER-TBI study. Crit. Care 21, 233.

doi: 10.1186/s13054-017-1816-9

CUSHING, H. (1914): Studies on the cerebrospinal fluid: I. Introduction. J. Med. Res. 31, 1-19.

CUTLER, R. W., L. PAGE, J. GALICICH, G. V. WATTERS (1968): Formation and absorption of cerebrospinal fluid in man. Brain 91, 707-720. doi: 10.1093/brain/91.4.707

CZOSNYKA, M., J. D. PICKARD (2004): Monitoring and interpretation of intracranial pressure. J Neurol. Neurosurg. Psychiatry 75, 813. doi: 10.1136/jnnp.2003.033126

DAI, Y., Q. MENG, W. MU, T. ZHANG (2017): Recent advances in the applications and biotechnological production of mannitol. J Funct. Foods. 36, 404–409. doi: 10.1016/j.jff.2017.07.022.

DAI, J.X., Y.B. MA, N.Y. LE, J. CAO, Y. WANG (2018): Large animal models of traumatic brain injury. Int. J. Neurosci. 128, 243–254. doi: 10.1080/00207454.2017.1380008

DAMKIER, H. H., BROWN, P. D., PRAETORIUS, J. (2013): Cerebrospinal fluid secretion by the choroid plexus. Physiol. Rev. 93, 1847–1892.

DANDY, W. E. (1919): Experimental hydrocephalus. Ann. Surg. 70, 129-142.

DANIAS, J., A. I. KONTIOLA, T. FILIPPOPOULOS, T. MITTAG (2003): Method for the noninvasive measurement of intraocular pressure in mice. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 44, 1138–1141.

oi: 10.1167/iovs.02-0553

DAVIES, C., O.K.L. HAMILTON, M. HOOLEY, T.E. RITAKARI, A.J. STEVENSON, E.N.W. WHEATER (2020): Translational neuroscience: The state of the nation (a Ph.D. student perspective). Brain Commun., 2. doi: 10.1093/braincomms/fcaa038

DAVSON, H. (1967): Physiology of the cerebrospinal fluid. Churchill, London.

DAVSON, H. (1969): Vegetative physiology and biochemistry. Academic Press.

DENNIS, L.J., S.A. MAYER (2001): Diagnosis and management of increased intracranial pressure. Neurol. India. 49, S37. PMID: 11889475.

DUBOURG, J., E. JAVOUHEY, T. GEERAERTS, M. MESSERER, B. KASSAI (2011): Ultrasonography of optic nerve sheath diameter for detection of raised intracranial pressure: a systematic review and meta-analysis. Intensive Care Med. 37:1059–68. doi: 10.1007/s00134-011-2224-2

DUBOURG, J., M. MESSERER, D. KARAKITSOS, V. RAJAJEE, E. ANTONSEN, E. JAVOUHEY, ET AL. (2013): Individual patient data systematic review and meta-analysis of optic nerve sheath diameter ultrasonography for detecting raised intracranial pressure: protocol of the ONSD research group. Syst. Rev.. 2:62. doi: 10.1186/2046-4053-2-62

EVENSEN, K. B., A. E. EIDE (2020): Intracranial Pressure Monitoring: Non-invasive Alternatives. Fluids Barriers CNS 17, 34. doi: 10.1186/s12987-020-00195-3

FAGGION, C.M., JR. (2015): Animal research as a basis for clinical trials. Eur. J. Oral Sci. 123, 61–64. doi: 10.1111/eos.12175

FLYNN, B.C. (2007): Hyperkalemic cardiac arrest with hypertonic mannitol infusion: the strong ion difference revisited. Anesth. Analg. 104, 225–226. doi: 10.1213/01.ane.0000249801.01029.55.

FREEMAN, W. D. (2015): Management of intracranial pressure. Continuum (Minneap Minn). 21:1299–1323. doi: 10.1212/CON.0000000000235

GALIN, M.A., R.D. BINKHORST, M.L. KWITKO (1968): Ocular dehydration. Am. J. Ophthalmol. 66, 233–235. doi: 10.1016/0002-9394(68)92068-0.

GEERAERTS, T., S. MERCERON, D. BENHAMOU, B. VIGUE, J. DURANTEAU (2008): Non-invasive assessment of intracranial pressure using ocular sonography in neurocritical care patients. Intensive Care Med. 34:2062–7. doi: 10.1007/s00134-008-1149-x

GOEL, M., R.G. PICCIANI, R.K. LEE, S.K. BHATTACHARYA (2010): Aqueous humor dynamics: A review. Open J. Ophthalmol. 4, 52–59. doi: 10.2174/1874364101004010052

GOLDBLUM, D., A. I. KONTIOLA, T. MITTAG, B. CHEN, J. DANIAS (2002): Noninvasive determination of intraocular pressure in the rat eye. Comparison of an electronic tonometer (TonoPen), and a rebound (impact probe) tonometer. Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 240, 942–946.

doi: 10.1007/s00417-002-0571-y

GOLDMANN, H. (1955): Un nouveau tonometre d'applanation. Bull. Soc. Ophtalmol. Fr. 67, 474–478. PMID: 13284610

GOLZAN, S. M., A. AVOLIO, J. MAGNUSSEN, S. L. GRAHAM (2012): Visualization of orbital flow by means of phase contrast MRI. *2012* Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. San Diego, CA: IEEE, 3384–3387. doi: 10.1109/EMBC.2012.6346691.

GÖBEL, K., F. RÜFER, C. ERB (2011): Physiology of aqueous humor formation, diurnal fluctuation of intraocular pressure and its significance for glaucoma. Klin. Monbl. Augenheilkd. 228(2), 104–108. doi: 10.1055/s-0029-1246040

GUTIERREZ, K., N. DICKS, W.G. GLANZNER, L.B. AGELLON, V. BORDIGNON (2015): Efficacy of the porcine species in biomedical research. Front. Genet. 6, 293. doi: 10.3389/fgene.2015.00293.

HANSEN, H.C., K. HELMKE (1997): Validation of the optic nerve sheath response to changing cerebrospinal fluid pressure: ultrasound findings during intrathecal infusion tests. J. Neurosurg. 87(1):34–40. doi: 10.3171/jns.1997.87.1.0034

HANSEN, H.-C., W. LAGRÈZE, O. KRUEGER, K. HELMKE (2011): Dependence of the optic nerve sheath diameter on acutely applied subarachnoidal pressure—an experimental ultrasound study. Acta Ophthalmol. 89, e528–e532. doi: 10.1111/j.1755-3768.2011.02159.x

HAYREH, S. S. (1964): Pathogenesis of oedema of the optic disc (papilloedema). A preliminary report. Br. J. Ophthalmol. 48, 522-543. doi: 10.1136/bjo.48.10.522

HAYREH, S.S. (1966): Posterior drainage of the intraocular fluid from the vitreous. Exp. Eye Res. 5, 123–IN16. doi: 10.1016/S0014-4835(66)80029-5

HAYREH, S.S. (1978): Fluids in the anterior part of the optic nerve in health and disease. Surv. Ophthalmol. 23, 1–25. doi: 10.1016/0039-6257(78)90194-7

HAYREH, S. S. (2011): Structure of the Optic Nerve. Ischemic Optic Neuropathies. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 7–34. doi: 10.1007/978-3-642-11852-4_2

HENG, K., B.K. YOUNG, B. LI, A.D. NIES, X. XIA, R.R. WEN, R. DALAL, G.T. BRAMBLETT, A.W. HOLT, J.M. CLELAND, J.N. HARRIS, A.Y. WU, J.L. GOLDBERG (2024): BDNF and cAMP are neuroprotective in a porcine model of traumatic optic neuropathy. JCI Insight. 9, e172935. doi: 10.1172/jci.insight.172935.

HINSON, H.E., D. STEIN, K.N. SHETH (2010): Hypertonic saline and mannitol therapy in critical care neurology. J. Intensive Care Med. 28, 3–11.

HOLEC-IWASKO, S., D.H. SHIN, K.A. PARROW, C.S. TSAI, M.J. WILKINSON, S.H. DUNN (1990): The influence of residual methylcellulose solution on Tono-Pen readings. Am. J. Ophthalmol. 109, 602–603. doi: 10.1016/s0002-9394(14)70697-x.

HORN, S.R., P.A. FISHER, J.H. PFEIFER, N.B. ALLEN, E.T. BERKMAN (2020): Levers and barriers to success in the use of translational neuroscience for the prevention and treatment of mental health and promotion of well-being across the lifespan. J. Abnorm. Psychol. 129, 38–48.

doi: 10.1037/abn0000465

HOU, N., X. DU, S. WU (2022): Advances in pig models of human diseases. Animal Model Exp Med. 5, 141–152. doi: 10.1002/ame2.12223.

JAFAR, J.J., L.M. JOHNS, S.F. MULLAN (1986): The effect of mannitol on cerebral blood flow. J. Neurosurg. 64, 754. doi: 10.3171/jns.1986.64.5.0754

JESSEN, N. A., MUNK, A. S., LUNDGAARD, I., NEDERGAARD, M. (2015): The glymphatic system: a beginner's guide. Neurochem. Res. 40, 2583-2599. doi: 10.1007/s11064-015-1581-6

JONAS, J. B., E. BERENSTEIN, L. HOLBACH (2003): Anatomic relationship between lamina cribrosa, intraocular space, and cerebrospinal fluid space. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 44, 5189–5195. doi: 10.1167/iovs.03-0174
JUN, I-J., M. KIM, J. LEE, S-U. PARK, J-H. HWANG, J-H. HONG, Y-K. KIM (2017): Effect of mannitol on ultrasonographically measured optic nerve sheath diameter as a surrogate for intracranial pressure during robot-assisted laparoscopic prostatectomy with pneumoperitoneum and the Trendelenburg position. J. Endourol. 32:608-613. doi: 10.1089/end.2017.0828.

JURJEVIĆ, I., J. MARAKOVIĆ, D. CHUDY, I. MARKELIĆ, M. KLARICA, A. FROEBE, D. OREŠKOVIĆ (2012): Dependence of cerebrospinal fluid pressure and volume on the changes in serum osmolarity in cats. Acta Neurochir. Suppl. 114, 351–355. doi: 10.1007/978-3-7091-0956-4_68.

KAISER, E.E., F.D. WEST (2020): Large animal ischemic stroke models: replicating human stroke pathophysiology. Neural. Regen Res. 15, 1377–1387. doi: 10.4103/1673-5374.274324.

KAPOOR, K. G., S. E. KATZ, D. M. GRZYBOWSKI, M. LUBOW (2008): Cerebrospinal fluid outflow: an evolving perspective. Brain Res. Bull. 77, 327–334. doi: 10.1016/j.brainresbull.2008.08.009

KHASAWNEH, A. H., R. J. GARLING, C. A. HARRIS (2018): Cerebrospinal fluid circulation: what do we know and how do we know it? Brain Circ. 4:14-18. doi: 10.4103/bc.bc_3_18

KILLER, H. E., H. R. LAENG, J. FLAMMER, P. GROSCURTH (2003): Architecture of arachnoid trabeculae, pillars, and septa in the subarachnoid space of the human optic nerve: anatomy and clinical considerations. Br. J. Ophthalmol. 87, 777-781. doi: 10.1136/bjo.87.6.777

KILLER, H.E., G.P. JAGGI, J. FLAMMER, N.R. MILLER, A.R. HUBER, A. MIRONOV (2007): Cerebrospinal fluid dynamics between the intracranial and the subarachnoid space of the optic nerve. Is it always bidirectional? Brain. 130, 514–520. doi: 10.1093/brain/awl324.

KILLER, H. E., G. P. JAGGI, N. R. MILLER, A. R. HUBER, H. LANDOLT, A. MIRONOV, ET AL. (2011): Cerebrospinal fluid dynamics between the basal cisterns and the subarachnoid space of the optic nerve in patients with papilloedema. Br. J. Ophthalmol. 95, 822–827. doi: 10.1136/bjo.2010.189324

KLARICA, M. (1997): Fiziologija cerebrospinalnog likvora i intrakranijski tlak. U: Temelji neuroznanosti (Judaš, M., I. Kostović; ur.). MD, Zagreb, 334-342.

KLARICA, M., T. KUZMAN, I. JURJEVIĆ, M. RADOŠ, A. TVRDEIĆ, D. OREŠKOVIĆ (2016): The effect of body position on intraocular and intracranial pressure in rabbits. Acta Neurochir. Suppl. 122. doi: 10.1007/978-3-319-22533-3_55.

KNIESTEDT, C., O. PUNJABI, S. LIN, R. L. STAMPER (2008): Tonometry through the ages. Surv. Ophthalmol. 53, 568–591. doi: 10.1016/j.survophthal.2008.08.024

KONTIOLA, A. (1996): A new electromechanical method for measuring intraocular pressure. Doc. Ophthalmol. 93, 265–276. doi: 10.1007/BF02569066

KONTIOLA, A., P. PUSKA (2004): Measuring intraocular pressure with the Pulsair 3000 and rebound tonometers in elderly patients without an anesthetic. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 242, 3–7. doi: 10.1007/s00417-003-0671-3

KROLLINGER, A.M., N.C. LA CROIX, P.M. BARRETT, ET AL. (2005): Evaluation of a rebound tonometer for measuring intraocular pressure in dogs and horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 227, 244–248. doi: 10.2460/javma.2005.227.244

LAUNEY, Y., N. NESSELER, P. LE MAGUET, Y. MALLÉDANT, P. SEGUIN (2014): Effect of osmotherapy on optic nerve sheath diameter in patients with increased intracranial pressure. J. Neurotrauma. 31, 984–988. doi: 10.1089/neu.2012.2829.

LEE, S.S., M.R. ROBINSON, R.N. WEINREB (2019): Episcleral venous pressure and the ocular hypotensive effects of topical and intracameral prostaglandin analogs. J. Glaucoma. 28, 846–857.

doi: 10.1097/IJG.000000000001307.

LEINONEN, V., VANNINEN, R., RAURAMAA, T. (2017): Cerebrospinal fluid circulation and hydrocephalus. Handb. Clin. Neurol. 145, 39-50.

doi: 10.1016/B978-0-12-802395-2.00005-5

LE ROUX, P., D. K. MENON, G. CITERIO, P. VESPA, M. K. BADER, G. M. BROPHY, et al. (2014): Consensus summary statement of the international multidisciplinary consensus conference on multimodality monitoring in neurocritical care. Neurocrit. Care 21, 1–26.

doi: 10.1007/s00134-014-3369-6

LENFELDT, N., L. O. KOSKINEN, A. T. BERGENHEIM, J. MALM, A. EKLUND (2007): CSF pressure assessed by lumbar puncture agrees with intracranial pressure. Neurology 68, 155–158.

doi: 10.1212/01.wnl.0000250270.54587.71

LEUNG, L.K., M.W. KO, D.C. LAM (2014): Individual-specific tonometry on porcine eyes. Med. Eng. Phys. 36, 96–101. doi: 10.1016/j.medengphy.2013.10.001

LIU, H., W. WANG, F. CHENG, Q. YUAN, J. YANG, J. HU, G. REN (2015): External Ventricular Drains versus Intraparenchymal Intracranial Pressure Monitors in Traumatic Brain Injury: A Prospective Observational Study. World Neurosurg. 83, 794–800. doi: 10.1016/j.wneu.2014.12.040

LIU, D., Z. LI, X. ZHANG, L. ZHAO, J. JIA, F. SUN, Y. WANG, D. MA, W. WEI (2017): Assessment of intracranial pressure with ultrasonographic retrobulbar optic nerve sheath diameter measurement. BMC Neurol. 17, 188. doi: 10.1186/s12883-017-0964-5.

LIU, E., X. PENG, H. MA, Y. ZHANG, X. YANG, Y. ZHANG, ET AL. (2021): The involvement of aquaporin-4 in the interstitial fluid drainage impairment following subarachnoid hemorrhage. Front. Aging Neurosci. 12, 611494. doi: 10.3389/fnagi.2020.611494

LIU, H., F. PAN, X. LEI, J. HUI, R. GONG, J. FENG, D. ZHENG (2023): Effect of intracranial pressure on photoplethysmographic waveform in different cerebral perfusion territories: A computational study. Front. Physiol. 14, 1085871. doi: 10.3389/fphys.2023.1085871

LIVESEY, G. (2003): Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. Nutr Res Rev. 16, 163–191. doi: 10.1079/NRR200371.

LOSSI, L., L. D'ANGELO, P. DE GIROLAMO, A. MERIGHI (2016): Anatomical features for an adequate choice of experimental animal model in biomedicine: II. Small laboratory rodents, rabbit, and pig. Ann Anat. 204, 11–28. doi: 10.1016/j.aanat.2015.10.002

LÖBLER, M., A. REHMER, R. GUTHOFF, ET AL. (2011): Suitability and calibration of a rebound tonometer to measure IOP in rabbit and pig eyes. Vet. Ophthalmol. 14, 66–68. doi: 10.1111/j.1463-5224.2010.00794.x.

LUNDBERG, N. (1960): Continuous recording and control of ventricular fluid pressure in neurosurgical practice. Acta Psychiatr. Scand. Suppl. 36, 1–193. PMID: 13764297

MACHIELE, R., M. MOTLAGH, M. ZEPPIERI, ET AL. (2024): Intraocular pressure. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <u>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532237/</u>.

MAISSAN, I.M., P.J. DIRVEN, I.K. HAITSMA, S.E. HOEKS, D. GOMMERS, R.J. STOLKER (2015): Ultrasonographic measured optic nerve sheath diameter as an accurate and quick monitor for changes in intracranial pressure. J. Neurosurg.123:743–7. doi: 10.3171/2014.10.JNS141197.

MARTIN, N. A., R. V. PATWARDHAN, M. J. ALEXANDER, C. Z. AFRICK, J. H. LEE, E. SHALMON, et al. (1997): Characterization of cerebral hemodynamic phases following severe head trauma: hypoperfusion, hyperemia, and vasospasm. J. Neurosurg. 87, 9–19. doi: 10.3171/jns.1997.87.1.0009

MARTINS, A. N., J. K. WILEY, P. W. MYERS (1972) Dynamics of the cerebrospinal fluid and the spinal dura mater. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 35, 468-473.

MASCALACHI M., L. CIRAOLO, G. TANFANI, N. TAVERNI, D. INZITARI, G. F. SIRACUSA, G. C. DAL POZZO (1988): Cardiac-gated phase MR imaging of aqueductal CSF flow. J. Comput. Assist. Tomogr. 12, 923-926

MATHIEU, E., N. GUPTA, A. AHARI, X. ZHOU, J. HANNA, Y. H. YÜCEL (2017): Evidence for cerebrospinal fluid entry into the optic nerve via a glymphatic pathway. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 58, 4784–4791. doi: 10.1167/iovs.17-22290

MATHIEU, E., N. GUPTA, X. ZHOU, L.A. PACZKA-GIORGI, A. AHARI, R. LANI, J. HANNA, Y.H. YÜCEL (2018): Cerebrospinal fluid entry to the optic nerve is impaired in glaucoma. Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 59:5876-5884. doi: 10.1167/iovs.18-24521

McCOMB, J. G. (1983): Recent research into the nature of cerebrospinal fluid formation and absorption. J. Neurosurg. 59, 369-383.

doi: 10.3171/jns.1983.59.3.0369

MIJA, R., I. ZUBAK, A. SCHUETZ, M. GLAS, C. FUNG, S.M. JAKOB, ET AL. (2020): Correlation of optic nerve and optic nerve sheath diameter with intracranial pressure in pigs. *PLoS ONE*. 15: e0228242.

doi: 10.1371/journal.pone.0228242.

MILHORAT, T. H. (1975): The third circulation revisited. J. Neurosurg. 42, 628-645. doi: 10.3171/jns.1975.42.6.0628

MILLER, P.E., J.P. PICKETT, L.J. MAJORS (1990): Evaluation of two applanation tonometers in horses. American Journal of Veterinary Research. 51, 935–937. PMID: 2368953

MORGAN, W. H., D. Y. YU, V. A. ALDER, S. J. CRINGLE, R. L. COOPER, P. H. HOUSE, I. J. CONSTABLE (1998): The correlation between cerebrospinal fluid pressure and retrolaminar tissue pressure. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 39, 1419–1428. PMID: 9660490

MORGENSTERN, L. B., J. C. HEMPHILL, C. ANDERSON, K. BECKER, J. P. BRODERICK, E. S. CONNOLLY, et al. (2010): Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage. A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke. 41, 2108-29 doi: 10.1161/STR.0b013e3181ec611b

MÜLLER, S. J., F. B. FREIMANN, C. VON DER BRELLIE, V. ROHDE, B. SCHATLO (2019): Test-Retest Reliability of Outpatient Telemetric Intracranial Pressure Measurements in Shunt-Dependent Patients with Hydrocephalus and Idiopathic Intracranial Hypertension. World Neurosurg. 131, 74–80. doi: 10.1016/j.wneu.2019.07.014.

MÜLLER, S. J., E. HENKES, M. J. GOUNIS, S. FELBER, O. GANSLANDT, H. HENKES (2023): Non-Invasive Intracranial Pressure Monitoring. J. Clin. Med. 12, 2209. doi: 10.3390/jcm12062209

MURALIDHARAN, R. (2015): External Ventricular Drains: Management and Complications. Surg. Neurol. Int. 6, 271. doi: 10.4103/2152-7806.157620.

NAG, D. S., S. SAHU, A. SWAIN, S. KANT (2019): Intracranial pressure monitoring: Gold standard and recent innovations. World J. Clin. Cases 7, 1535–1553.

doi: 10.12998/wjcc.v7.i13.1535

NAKAGAWA, K., W. S. SMITH (2011): Evaluation and management of increased intracranial pressure. Continuum (Minneap Minn) 17, 1077–1093. doi: 10.1212/01.CON.0000407061.25284.28

NOMANI, A.Z., Z. NABI, H. RASHID, J. JANJUA, H. NOMANI, A. MAJEED, S.R. CHAUDRY, A.S. MAZHAR (2014): Osmotic nephrosis with mannitol: review article. Ren Fail. 36, 1169–1176. doi: 10.3109/0886022X.2014.926758.

OREŠKOVIĆ, D., KLARICA, M. (2010): The formation of cerebrospinal fluid: nearly a hundred years of interpretations and misinterpretations. Brain Res. Rev. 64, 241-262.

doi: 10.1016/j.brainresrev.2010.04.006

OREŠKOVIĆ, D., J. MARAKOVIĆ, R. VARDA, M. RADOŠ, I. JURJEVIĆ, M. KLARICA (2018): New Insight into the Mechanism of Mannitol Effects on Cerebrospinal Fluid Pressure Decrease and Craniospinal Fluid Redistribution. Neuroscience 392, 164-171.

doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.09.029

PARTINGTON, T., A. FARMERY (2014): Intracranial pressure and cerebral blood flow. Anaesth. Intensive Care Med. 15, 189–194. doi: 10.1016/j.mpaic.2014.02.002

PINTO, V. L., P. TADI, A. ADEYINAKA (2022): Increased Intracranial Pressure. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. PMID: 29489250.

PIRCHER, A., M. MONTALI, J. PIRCHER, J. BERBERAT, L. REMONDA, H. E. KILLER (2018): Perioptic cerebrospinal fluid dynamics in idiopathic intracranial hypertension. *Front. Neurol.* 9, 506.PRATHER, R.S., ET AL. (2013): Genetically engineered pig models for human diseases. Annu Rev Anim Biosci. 1, 203–219. doi: 10.3389/fneur.2018.00506

QAYYUM, H., S. RAMLAKHAN (2013): Can ocular ultrasound predict intracranial hypertension? A pilot diagnostic accuracy evaluation in a UK emergency department. *European* J. Emerg. Med. 20, 91–7. doi: 10.1097/MEJ.0b013e32835105c8

RABOEL, P. H., J. BARTEK, M. ANDRESEN, B. M. BELLANDER, B. ROMNER (2012): Intracranial Pressure Monitoring: Invasive versus Non-Invasive Methods—A Review. Crit. Care Res. Pract. 2012;2012:950393. doi: 10.1155/2012/950393

RAMACHANDRA, V., P. CHANDRAN, R. PHILIP, V. ARUNAACHALAM, G.V. RAMAN (2019): Effect of mannitol on intraocular pressure in vitrectomized and nonvitrectomized eyes: A prospective comparative study. *J. Glaucoma.* 28, 318–320. doi: 10.1097/IJG.00000000001158.

RAVUSSIN, P., D. P. ARCHER (2000): The uses of mannitol in neuro-anaesthesia and neuro-intensive care. Eur. J. Anaesthesiol. 17, 89-91. doi: 10.1097/00003643-20000001-00049

RENNELS, M. L., T. F. GREGORY, O. R. BLAUMANIS, K. FUJIMOTO, P. A. GRADY (1985): Evidence for a 'Paravascular' fluid circulation in the mammalian central nervous system, provided by the rapid distribution of tracer protein throughout the brain from the subarachnoid space. Brain Res. 326, 47–63. doi: 10.1016/0006-8993(85)91383-6

ROBERT, L. S. (2011): A History of Intraocular Pressure and Its Measurement. Optom. Vis. Sci. 88, 16–28. doi: 10.1097/OPX.0b013e318205a4e7.

ROCKWELL, K. (2015): Therapeutic review: Mannitol. J. Exo. Pet. Med. 24, 120–122. doi: 10.1053/j.jepm.2014.11.002.

RODRIGUEZ-PERALTA, L.A. (1966): Hematic and fluid barriers in the optic nerve. J. Comp Neurol. 126, 109–121. doi: 10.1002/cne.901260109.

RUBIN, R. C., E. S. HENDERSON, A. K. OMMAYA, M. D. WALKER, D. P. RALL (1966): The production of cerebrospinal fluid in man and its modification by acetazolamide. J. Neurosurg. 25, 430-436. doi: 10.3171/jns.1966.25.4.0430

RUIZ-EDERRA, J., M. GARCÍA, M. HERNÁNDEZ, ET AL. (2005): The pig eye as a novel model of glaucoma. Exp. Eye Res. 81, 561–569. doi: 10.1016/j.exer.2005.03.014

SANCHEZ, I., R. MARTIN, F. USSA, I. FERNANDEZ-BUENO (2011): The parameters of the porcine eyeball. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 249, 475–482. doi: 10.1007/s00417-011-1617-9

SALAZAR, J., I. A. RAMÍREZ, R. DE HOZ, E. SALOBRAR-GARCÍA, P. ROJAS, J. A. FERNÁNDEZ-ALBARRAL, ET AL. (2019): Anatomy of the human optic nerve: Structure and function. U: Ferreri, M. (Ur.). Optic Nerve. London: IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.79827

SAHA, B.C., F.M. RACINE (2011): Biotechnological production of mannitol and its applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 89, 879–891. doi: 10.1007/s00253-010-2979-3.

SCHIZODIMOS, T., V. SOULOUNTSI, C. IASONIDOU, N. KAPRAVELOS (2020): An overview of management of intracranial hypertension in the intensive care unit. J. Anesth. 34, 741-757. doi: 10.1007/s00540-020-02795-7

SCHOOK, L.B., T.V. COLLARES, K.A. DARFOUR-ODURO, A.K. DE, L.A. RUND, K.M. SCHACHTSCHNEIDER, ET AL. (2015): Unraveling the swine genome: implications for human health. Annu Rev. Anim. Biosci. 3, 219–244. doi: 10.1146/annurev-animal-022114-110815.

SCHROT, R. J., J. P. MUIZELAAR (2002): Mannitol in acute traumatic brain injury. Lancet 359, 1633-1634.

doi: 10.1016/S0140-6736(02)08545-8

SHAWKAT, H., M. WESTWOOD, A. MORTIMER (2012): Mannitol: a review of its clinical uses. Contin. Educ. Anaesth. Care Pain. 12, 82–85.

doi: 10.1093/bjaceaccp/mkr063.

SHENG, J., Q. LI, T. LIU, X. WANG (2022): Cerebrospinal fluid dynamics along the optic nerve. Front. Neurol. 13, 931523. doi: 10.3389/fneur.2022.931523

SHIBUKAWA, S., MIYATI, T., NIWA, T., et al. (2018): Time-spatial labeling inversion pulse (Time-SLIP) with pencil beam pulse: a selective labeling technique for observing cerebrospinal fluid flow dynamics. Magn. Reson. Med. Sci. 17, 259-264.

doi: 10.2463/mrms.tn.2017-0032

SIMOENS, P. (1993): In vivo and in vitro study of experimental occlusion of choroidal and retinal blood vessels in the miniature pig. *Verh K Acad Geneeskd Belg.* 55, 319–375. PMID: 8128778.

SIMON, M., J. J. ILIFF (2016): Regulation of cerebrospinal fluid (CSF) flow in neurodegenerative, neurovascular and neuroinflammatory disease. Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis. 862, 442–451.

doi: 10.1016/j.bbadis.2015.10.014.

SMITH, M. (2008): Monitoring intracranial pressure in traumatic brain injury. Anesth. Analg. 106, 240–248. doi: 10.1213/01.ane.0000297296.52006.8e.

SONG, S.H., C. VIEILLE (2009): Recent advances in the biological production of mannitol. Appl. Microbiol. Biotechnol. 84, 55–62. doi: 10.1007/s00253-009-2086-5.

SORANI, M.D., G.T. MANLEY (2008): Dose-response relationship of mannitol and intracranial pressure: a meta-analysis. J.Neurosurg. 108, 80–87. doi: 10.3171/JNS/2008/108.

SPECTOR, R., KEEP, R. F., SNODGRASS, R. S., SMITH, Q. R., JOHANSON, C. E. (2015): A balanced view of choroid plexus structure and function: focus on adult humans. Exp. Neurol. 267, 78–86.

STAMPER, R. L. (2011): A History of Intraocular Pressure and Its Measurement. Optom. Vis. Sci. 88, 16–28. doi: 10.1097/OPX.0b013e318205a4e7

STEINER, L. A., M. CZOSNYKA, S. K. PIECHNIK, et al. (2002): Continuous monitoring of cerebrovascular pressure reactivity allows determination of optimal cerebral perfusion pressure in patients with traumatic brain injury. Crit. Care Med. 30, 733–738. doi: 10.1097/00003246-200204000-00002

SWINDLE, M.M., A. MAKIN, A.J. HERRON, F.J. CLUBB JR., K.S. FRAZIER (2012): Swine as models in biomedical research and toxicology testing. Vet. Pathol. 49, 344–356. doi: 10.1177/0300985811402846.

TADEVOSYAN, A., J. KORNBLUTH (2021): Brain Herniation and Intracranial Hypertension. *Neurol. Clin.* 39, 293–318.

doi: 10.1016/j.ncl.2021.02.005

TAKEUCHI, K., ONO, A., HASHIGUCHI, Y., MISAWA, H., TAKAHATA, T., TERAMOTO, A., NAKAHARA, S. (2017): Visualization of cerebrospinal fluid flow in syringomyelia through noninvasive magnetic resonance imaging with a time-spatial labeling inversion pulse (Time-SLIP). J. Spinal Cord Med. 40, 368-371. doi: 10.1080/10790268.2016.1140391

TAVAKOLI, S., G. PEITZ, W. ARES, S. HAFEEZ, R. GRANDHI (2017): Complications of Invasive Intracranial Pressure Monitoring Devices in Neurocritical Care. Neurosurg. Focus 43, 6.

doi: 10.3171/2017.8.FOCUS17450.

THOMALE, U. W., D. GRAETZ, P. VAJKOCZY, A. S. SARRAFZADEH (2010): Severe traumatic brain injury in children—a single center experience regarding therapy and long-term outcome. Childs Nerv. Syst. 26, 1563–1573. doi: 10.1007/s00381-010-1103-4

TORIS, C.B. (2008): Aqueous humor dynamics I: Measurement methods and animal studies. Curr. Top. Membr. 62, 193–229. doi: 10.1016/S1063-5823(08)00407-9

TORIS, C.B., J.E. PEDERSON (1985): Experimental retinal detachment: VIII. Retinochoroidal horseradish peroxidase diffusion across the blood-retinal barrier. Arch. Ophthalmol. 103, 266–269. doi: 10.1001/archopht.1985.01050020118033

TURLIUC, M.D., A.I. CUCU, B. COSTACHESCU, ET AL. (2019): The use of mannitol in neurosurgery and neuro-ophthalmology. Cellul. Chem. Technol. 53, 625–633. doi: 10.35812/CelluloseChemTechnol.2019.53.61

TWA, M.D. (2018): Intraocular pressure and glaucoma. Optom. Vis. Sci. 95, 83–85. doi: 10.1097/OPX.00000000001183

VAN DER JAGT, L. H., N. M. JANSONIUS (2005): Three portable tonometers, the TGDc-01, the ICARE, and the Tonopen XL, compared with each other and with Goldmann applanation tonometry. Ophthalmic Physiol. Opt. 25, 429–435. doi: 10.1111/j.1475-1313.2005.00318.x WANG, W. H., J. C. MILLAR, I. H. PANG, M. B. WAX, A. F. CLARK (2005): Noninvasive measurement of rodent intraocular pressure with a rebound tonometer. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 46, 4617–4621. doi: 10.1167/iovs.05-0781

WANG, X., C. DELLE, W. PENG, V. PLÁ, M. GIANNETTO, P. KUSK, B. SIGURDSSON, S. SAKURAI, A. SWEENEY, Q. SUN, T. DU (2023): Age- and glaucoma-induced changes to the ocular glymphatic system. Neurobiol. Dis. 188, 106322. doi: 10.1016/j.nbd.2023.106322

WEED, L. H. (1914): Studies on cerebrospinal fluid. No. II: The theories of drainage of cerebrospinal fluid with an analysis of the methods of investigation. J. Med. Res. 31, 21-49.

WEI, J., W. ZHANG, J. LI, Y. JIN, Z. QIU (2022): Application of the transgenic pig model in biomedical research: A review. Front. Cell Dev. Biol. 10, 1031812. doi: 10.3389/fcell.2022.1031812.

WHITACRE, M. M., R. A. STEIN, K. HASSANEIN (1993): The effect of corneal thickness

on applanation tonometry. Am. J. Ophthalmol. 115, 592-596.

doi: 10.1016/s0002-9394, 71455-2

WISE, B.L., N. CHATER (1962): The value of hypertonic mannitol solution in decreasing brain mass and lowering cerebro-spinal-fluid pressure. J. Neurosurg. 19, 1038–1043. doi: 10.3171/jns.1962.19.12.1038.

WONG, C.W., ET AL. (2020): Endogenous or exogenous retinal pigment epithelial cells: A comparison of two experimental animal models of vitreoretinopathy. Transl. Vis. Sci. Technol. 9, 46.

doi: 10.1167/tvst.9.9.46

WOSTYN, P., V. DE GROOT, D. VAN DAM, K. AUDENAERT, H. E. KILLER, P. P. DE DEYN (2016): Fast circulation of cerebrospinal fluid: an alternative perspective on the protective role of high intracranial pressure in ocular hypertension. Clin. Exp. Optom. 99, 213–218. doi: 10.1111/cxo.12332

YAMADA, S. (2021): Cerebrospinal fluid dynamics. Croat. Med. J. 62, 399-410. doi: 10.3325/cmj.2021.62.399

YOUMANS, J. R., ed. (1996): Neurological surgery, vol. 3, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders.

9. PRILOZI

- 9.1. Popis korištenih kratica
- AGL duljina podužne osi očne jabučice (engl.axial globe lenhgt)
- AH očna vodica (engl. aqueous humor)
- CSL cerebrospinalni likvor
- CBF cerebralni protok krvi (engl. cerebral blood flow)
- CT kompjuterizirana tomografija (engl. computed tomography)
- CS cervikalna stenoza
- CVR cerebrovaskularnog otpora (engl. cerebrovascular resistance)
- d-ON promjer očnog živca
- d-ONS promjer ovojnice očnog živca
- ETT endotrahealni tubus
- EVD vanjska ventrikularna drenaža (engl. extraventricular drainage)
- FDA Američka agencija za hranu i lijekove (engl. Food and Drug Administration)
- g/kg grami po kilogramu
- HE hematoksilin-eozin
- ICC intraklasni koeficijent korelacije (engl. intraclass correlation coefficient)
- IKH intrakranijska hipertenzija
- IKT intrakranijski tlak
- IIOT intraokularni tlak mjeren invazivnom tehnikom
- IOT intraokularnog tlaka
- kg kilogrami
- LC lamina cribrosa

LP - lumbalna punkcija

- I-POS dubina prednje očne sobice
- I-VITR dubina vitrealne šupljine
- MAP srednji arterijski tlak (engl. mean atrerial pressure)
- MHz megaherci
- **mm** milimetar
- mmHg milimetri žive
- \mathbf{ml} mililitri
- NaCl natrij klorid
- NIOT introkularni tlak mjeren neinvazivnom tehnikom
- NTG notmotenzivni glaukom (engl. normal tension glaucoma)
- ON očni živac (engl. optic nerve)
- **ONSAS** subarahnoidni prostor optičkog živca (engl. optic nerve subarachnoid space)
- **ONSD** širina ovojnice optičkog živca (engl. optic nerve sheat diameter)
- PNS perineuralni prostor (engl. perineural space)
- RI radioizotopi
- SANS sindrom neurookularnih poremećaja povezanih sa svemirskim letovima (engl. Spaceflight – Assotiated Neuro-Ocular Syndrome)
- SAS spinalni subarahnoidni prostor (engl. spinal subarachnoid space)
- TBI traumatska ozljeda mozga (engl. traumatic brain injuri)
- TLG translaminarni gradijent (engl. translamilar gradient)
- UZV ultrazvučna pretraga oka

- Slika 5. Kompjuterizirano tomografske (CT) slike glave u poprečnom (aksijalnom) i bočnom (sagitalnom) presjeku radi provjere koordinata i položaja katetera: na oba presjeka uočava se kateter umetnut u ventrikularni sustav mozga......31
- Slika 6. UZV prikaz oka u uzdužnom presjeku sa označenim mjernim parametrima: (A) aksijalna duljina očne jabučice, (B) dubina prednje očne sobice, (C) dubina vitrealne šupljine, (D) promjer ovojnice očnog živca (3 mm iz optičkog diska)..35

Slika 8. Neinvazivno mjerenje intraokularnog tlaka povratnim tonometrom, Tonovet®......37

Slika 9.	. Slika prikazuje ICC vrijednosti za UZV varijable iz pokusa (C	ON, ONS, POS, AC	ίL,
	VITR), s rasponom osi ICC od 0.0 do 0.75.		39

Slika 10. Označavanje mjernih koordinata za izvođenje kraniotomije radi postav	vljanja mjerne
kanile (7mm lateralno od bregme)	41
Slike 11. Drikez mierone konile i Feleveyez katatore na nijboyem uvođenju i fik	42
Sinka 11. Prikaz mjerene kanne i Foleyevog katelera po njihovom uvodenju i lik	saciji42

Slika 14. Prikaz pojave pulzacijske krivulje invazivno mjerenog intraokularnog tlaka na anesteziološkom monitoru nakon postavljanja kanile (crveni krug).45

- Slika 16. Shematski prikaz faze intrakranijska hipertenzija koja je izazvana postavljanjem Foleyevog katetera (broj 5.) (izrađeno u programu Biorender)......49

Slika 18. Prikaz uzorka očne jabučice s očnim živcem po fiksaciji i enukleaciji......52

- Slika 20. Točke prikazuju prosječne vrijednosti intraokularnog tlaka (IOT; mmHg) mjerenog invazivnom tehinkom (IIOT; crna linija) i neinvazivnom tehnikom (NIOT; crvena linija) kroz različite faze pokusa okomite linije predstavljaju standardnu devijaciju.
 58

- Slika 24. Mikroskopski prikaz očnog živca (podužni presjek). Multifokalno se između snopića živčanih vlakana (crne strelice) uočava edem umjerenog stupnja. HE, 20x......65
- Slika 25. Točke na grafu predstavljaju pojedinačne vrijednosti duljine podužne osi očne jabučice - AGL (mm) izmjerene u različitim fazama pokusa (kontrola, manitol, IKH, IKH + manitol, CS, CS + manitol). Deblja horizontalna linija unutar svakog

okvira predstavlja medijan, dok pravokutnik prikazuje interkvartilni raspon. Tanke vertikalne linije iznad i ispod pravokutnika označavaju ukupni raspon vrijednosti bez ekstremnih točaka, koje su zasebnim točkama prikazane izvan ovog raspona.

Slika 27. Prikaz promjena vrijednosti dubine vitreusa (VITR, u mm) kroz faze pokusa......70

- Tablica 3. Prikaz vrijednosti UZV varijabli podužne osi jabučice (AGL), prednje očne sobice (l-POS), vitrealne šupljine (l-VITR), te promjene promjera optičkog živca (d-ON) i njegove ovojnice (d-ONS) desnog i lijevog bulbusa na početku pokusa u kontrolnoj fazi izraženih u mm.

10. ŽIVOTOPIS

Marija Mamić rođena je 21. svibnja 1992. godine u Zagrebu. Osnovnu školu "Remete" pohađala je u rodnom gradu, a 2007. godine upisuje opću VII. Gimnaziju također u Zagrebu. Nakon toga, 2011. godine upisuje integrirani preddiplomski i diplomski studij na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom cijelog studiranja sudjelovala je u raznim studentskim aktivnostima. Svih 6 godina bila je članica Studentskog zbora Veterinarskog fakulteta, a tijekom 5 godina predstavnik svoje generacije te samim time i član Fakultetskog vijeća Veterinarskog fakulteta. U listopadu 2013. godine izabrana je za tajnicu studentske udruge "IVSA Croatia" koja je ogranak međunarodnog udruženja studenata veterine. Zajedno s ostalim vodstvom udruge, sudjelovala je u organizaciji brojnih studentskih razmjena. Od 2013.- 2015. godine bila je demonstratorica Knjižnice Veterinarskog fakulteta i članica Odbora knjižnice. Kao članica Akademskog pjevačkog zbora "Ab ovo" u lipnju 2014. godine nagrađena je Posebnom rektorovom nagradom. U siječnju 2015. priključuje se timu Klinike za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta u svojstvu volontera sve do rujna 2018. Tamo je pod stručnim vodstvom stekla brojna znanja i vještine posebno u području veterinarske oftalmologije, neurokirurgije i anesteziologije. Tijekom volontiranja na Klinici, od listopada 2015. do veljače 2018. bila je demonstratorica te pomagala u radu sa studentima tijekom održavanja kliničkih vježbi i rotacija na kolegijima Kirurgija, ortopedija i oftalmologija I, II i III. Tijekom studija, pohađala je brojne stručne seminare, kongrese i radionice, a na nekima od njih samostalno je izlagala. Studij završava 2018. godine obranom diplomskog rada pod nazivom "Liječenje pasa s grudno-slabinskim sindromom", pod mentorstvom prof. dr. sc. Borisa Pirkića i doc. dr. sc. Marka Stejskala. U prosincu 2018. godine započinje jednogodišnji rotacijski internship program u Sveučilišnoj bolnici Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Na Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju počinje raditi u travnju 2019. godine kao asistentica te 2020. godine upisuje doktorski studij Veterinarske znanosti na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Osim na kolegijima Kirurgija ortopedija i oftalmologija I, II i III sudjeluje u izvođenju nastave i na kolegijima Surgery, orthopedics and ophthalmology I, II i III, Bolesti i liječenje pasa i mačaka I, Diseases and treatment of dogs and cats I, Dijagnostička veterinarska citologija, Veterinary Cytology, a kraći period sudjeluje i u održavanju nastave iz anesteziologije na poslijediplomskom specijalističkom studiju "Kirurgija, anesteziologija i oftalmologija s veterinarskom stomatologijom" pod vodstvom akademika Dražena Matičića. Nakon završetka doktorskog studija, planira se nastaviti znanstveno i stručno usavršavati u području veterinarske oftalmologije i neurokirurgije.

Stručno usavršavanje

- "Eastern european regional veterinary conference" održanom u Ljubljani (5.–7. svibnja 2022. godine)
- Članica EESVO (East European Society of Veterinary Opthalmology), 2022.
- VII Opthalmology Conference of EESVO, Katowice (15. listopada 2022.)
- Special operative procedures in small animals- gastrointestinal surgery workshop (25. studeni 2022.), Veterinarski fakultet, Budimpešta
- 9th Congress of the Croatian Neurosurgical Society, Zadar (12.-15. listopada, 2023.)
- 10th International Congress Veterinary Science and Profession, Zagreb (5. i 6. listopada 2023.)—članica organizacijskog odbora i koautorica tri posterska priopćenja
- SIVEMAP XVII, Beograd (17.-19. studeni 2023.)
- Neurološki simpozij, VETTI GROUP d.o.o, Zagreb (25.-26. studeni 2023.)
- Advanced neurology I course, Bristol UK (30. listopada- 1. studenog 2024.)

Znanstveni radovi objavljeni u časopisima citiranim u bazama podataka CC i SCI

- MAMIĆ, M., M. MATKOVIĆ, P. DMITROVIĆ, V. PLICHTA, B. PIRKIĆ (2025): Dynamics between cerebrospinal fluid and aqueous humour – are they bidirectional? Veterinarska stanica 55, 663-670. https://doi.org/10.46419/vs.56.5.9
- BAKULA, M., T. KUZMAN, M. RADOŠ, K. STARČEVIĆ, I. JURJEVIĆ, M. MAMIĆ, B. PIRKIĆ, M. KLARICA (2024): Control values of intraocular pressure in different species: a review of literature. Croatian Medical Journal 65, 6; 518-529. https://doi.org/10.3325/cmj.2024.65.518

- DMITROVIĆ, P., M. MAMIĆ, B. PIRKIĆ (2024): Neurofiziologija cerebrospinalnog likvora–što znamo nakon 100 godina njegova istraživanja? Veterinarska stanica 55, 317-326. <u>https://doi.org/10.46419/vs.55.3.1</u>
- HUBER, D., B. ŠKRLIN, M. MAMIĆ, A. SMAJLOVIĆ, A. MUSULIN (2022): Ovarian Suture Granuloma Resembling a Tumor in a Bitch. Topics in Companion Animal Medicine 50, 1-4. <u>https://doi.org/10.1016/j.tcam.2022.100675ž</u>
- 5. ŠURAN, J., J. ALADROVIĆ, B. BEER LJUBIĆ, J. VLAINIĆ, M. MAMIĆ, B. RADIĆ, G. BAČIĆ, N. MAČEŠIĆ, M. BENIĆ, A. KOSTELIĆ, F. BOŽIĆ, H. PAVASOVIĆ, L. RADIN (2020): The antioxidant effect of the novel bee-product based intramammary formulation Apimast® in dairy cattle. Veterinarski arhiv 90, 225-233. <u>https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0865</u>
- STEJSKAL, M., P. DMITROVIĆ, M. MAMIĆ, K. TANHOFER, KARLO (2020): Open reduction of a traumatic left scapulohumeral luxation in a degu (Octodon degus)

 a case report. Veterinarski arhiv 90, 213-216. https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0359
- MAMIĆ, M., B. PIRKIĆ, V. PLICHTA, T. KOVAČ, P. DMITROVIĆ (2020): Liječenje pasa s grudno-slabinskim sindromom. Veterinarska stanica 51, 276-280. <u>https://doi.org/10.46419/vs.51.3.4</u>

Stručni radovi

1. MATKOVIĆ, M., M. MAMIĆ, V. PLICHTA (2024): Dijagnostika i liječenje luksacije leće u pasa. Hrvatski veterinarski vjesnik 32, 63-65.

Sažeci s međunarodnih i domaćih znanstvenostručnih skupova

- MILJAK, K., M. MAMIĆ, N. BRKLJAČA BOTTEGARO, V. PLICHTA (2023): Medical and surgical treatment of eosinophilic keratitis in a 3-year-old Warmblood horse. Book of Abstracts of 10th International Congress Veterinary Science and Profession, 5. – 6. listopada 2023., Zagreb, Hrvatska, str. 56.
- ĆURIĆ, P., M. MAMIĆ, N. IVKIĆ, K. MILJAK, M. VUČKOVIĆ (2023): Ophthalmological disorders related to an oral squamous cell carcinoma in a

north african hedgehog (Atelerix Algirus) – a case report. Book of Abstracts of 10th International Congress Veterinary Science and Profession, 5. – 6. listopada 2023., Zagreb, Hrvatska, str. 121.

- MATKOVIĆ, M., I.-C. ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN, B. PIRKIĆ, V. PLICHTA, M. MAMIĆ (2023): Nodular granulomatous episcleritis (NGE) in a Japanese chin dog. Book of Abstracts of 10th International Congress Veterinary Science and Profession, 5. – 6. listopada 2023., Zagreb, Hrvatska, str. 95.
- BEER LJUBIĆ, B., D. GRAČNER, M. MAMIĆ, I. KIŠ, L. PAĐEN, J. ALADROVIĆ (2021): The education can minimize errors in preanalitical phase of laboratory diagnostics. Book of Abstracts of II International Congress of Education in Animal Sciences (ICEAS), srpanj 2021., Murcia, Španjolska, str. 41.
- SMAJLOVIĆ, A., M. KRESZINGER, M. MAMIĆ, T. KOSTANJŠAK, J. BORAS, H. CAPAK, M. PEĆIN (2021): Anesthetic management of a femur fracture repair in a young red fox. Book of Abstracts of the 9th International Congress Veterinary Science and Profession, 9. listopada 2021., Zagreb, Hrvatska, str. 69.
- STEPANIĆ, Ž. M., A. SMAJLOVIĆ, T. KOSTANJŠAK, M. MAMIĆ, B. PETRIČEVIĆ, B. MEDIĆ, V. PLICHTA (2021): Rare case of periocular swelling in a dog. Book of Abstracts of the 9th International Congress Veterinary Science and Profession, 9. listopada 2021., Zagreb, Hrvatska, str. 91.
- PLICHTA, V., M. MAMIĆ, Z. VRBANAC, T. KOVAČ, H. CAPAK, N. BRKLJAČA BOTTEGARO, D. VNUK, B. PIRKIĆ (2019): Osseous metaplasia in ciliary body of guinea pig – a case report. Book of Abstracts of the 8th International Congress Veterinary Science and Profession, 10. – 12. listopada 2019., str. 129.
- MAMIĆ, M., O. SMOLEC, V. PLICHTA, A. SMAJLOVIĆ, S. VUKELIĆ, D. VNUK (2019): Surgical management of paraphimosis in dog – a case report. Book of Abstracts of the 8th International Congress Veterinary Science and Profession, 10. – 12. listopada 2019., str. 145.