

# FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 1

OSREDNJA TEMA:  
ANTIBIOTIKI IN ANTIMIKOTIKI





STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE | PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA

# FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 1 | marec 2017 | letnik 68

ODGOVORNI UREDNIK:  
Borut Štrukelj

GLAVNA UREDNICA:  
Nina Kočevar Glavač

UREDNIŠKI ODBOR:  
Tomaž Bratkovič  
Mitja Kos  
Janja Marc  
Andrijana Tivadar  
Matjaž Tuš  
Tomaž Vovk

IZDAJATELJSKI SVET:  
Cvetka Bačar Bole  
Darja Frankič  
Janez Ilaš  
Smilja Milošev Tuševljak  
Aleš Obreza  
Nina Pisk  
Sonja Rupret

NASLOV UREDNIŠTVA /  
ADDRESS OF THE EDITORIAL OFFICE:  
Slovensko farmacevtsko društvo,  
Dunajska 184a, 1000 Ljubljana  
T.: +386 (01) 569 26 01  
Transakcijski račun pri Novi LB d.d. Ljubljana:  
02010-0016686585.

Izhaja petkrat letno.  
Letna naročnina je 70 EUR.  
Za tuje naročnike 100 US\$.

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM  
Fotografija na naslovnici: Shutterstock  
Naklada: 3.500 izvodov

Farmacevtski vestnik (Pharmaceutical Journal of Slovenia) is published 5 times a year by the Slovenian Pharmaceutical Society, Subscription rate in inland 70 EUR other countries US\$ 100.

Farmacevtski vestnik is regularly abstracted in: BIOLOGICAL ABSTRACTS, CHEMICAL ABSTRACTS, PHARMACEUTICAL ABSTRACTS, MEDICAL & AROMATIC PLANTS ABSTRACTS AND INBASE / Excerpta Medica

Farmacevtski vestnik sofinancira Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije iz sredstev državnega proračuna iz naslova razpisa za sofinanciranje domačih znanstvenih periodičnih publikacij.

## UVODNIK

*Pomlad nezadržno prihaja v deželo. Ali lahko pričakujemo pomlad tudi na področju farmacije v Sloveniji? Novi zakon o lekarniški dejavnosti je prinesel nekaj novosti, prav tako pričakujemo določene spremembe tudi z uvedbo nove zdravstvene reforme, predvsem pri večji povezanosti obeh strok, farmacevtske in medicinske. Seveda le, če bomo aktivneje sodelovali in dnevno izkazovali svoje znanje, ki ga farmacevti imamo. Sprejmimo priložnosti in izzive, pokažimo, da tvorno oblikujemo zdravstveni prostor.*

*Osrednja tema te številke Farmacevtskega vestnika so protimikrobne učinkovine, kjer v prvem članku avtor Jurij Fürst podaja porabo protimikrobnih in protiglivičnih učinkovin v Sloveniji, dr. Kristina Nadrah opisuje principe antibiotične kirurške profilakse, temu pa sledi prispevek Polonce Drogenik o prilagajanju odmerkov protimikrobnih zdravil. Zanimiv je prispevek o uporabi metilenskega modrila v zdravljenju septičnega šoka, ki so ga pripravili kolegi pod vodstvom doc. dr. Polonce Ferk, z vidika toksikologije pa prispevek kolegic Lapanja in prof. dr. Sollner Dolenčeve o mejnih vrednosti ostankov zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi po čiščenju v proizvodnih prostorih. Z zanimanjem bomo prebrali tudi članek kolegic Tamare Knific in prof. dr. Tee Lanišnik Rižner o androgenih in raku endometrija.*

*Ponujamo vam obilo novih spoznanj, vabljeni k branju!*

*Prof. dr. Borut Štrukelj  
Odgovorni urednik*



## VSEBINA / CONTENT

### STROKOVNI ČLANKI – PROFESSIONAL ARTICLES

- Jurij Fürst**  
3 Poraba protimikrobnih in protiglivičnih zdravil v Sloveniji  
*Consumption of antibiotics and antimycotics*
- Kristina Nadrah**  
6 Antibiotična kirurška profilaksa – osnovni principi in trajanje  
*Antibiotic surgical prophylaxis – basic principles and duration of treatment*
- Teja Glavnik**  
10 Zdravljenje z lokalnimi antimikotiki – kje so težave?  
*Treatment with topical antimycotics – what are the difficulties?*
- Polonca Drogenik**  
14 Prilagajanje odmerkov protimikrobnih zdravil  
*Dose adjustments of the antimicrobial drugs*
- Katja Jerenec, Andrej Markota, Polonca Ferik**  
25 Uporaba metilenskega modrila v zdravljenju septičnega šoka  
*The use of methylene blue in the treatment of septic shock*
- Nevenka Kragelj Lapanja, Marija Sollner Dolenc**  
32 Meje vrednosti ostankov zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi po čiščenju v proizvodnih prostorih  
*Exposure limits of residues of active ingredients and excipients after cleaning in production facilities*

### PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI – REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

- Tamara Knific, Tea Lanišnik Rižner**  
38 Androgeni in rak endometrija – možnosti novih pristopov zdravljenja  
*Androgens and endometrial cancer – potential novel therapeutical approaches*

### 48 NOVI DOKTORJI ZNANOSTI – NEW DOCTORS OF SCIENCE

### ZANIMIVOSTI IZ STROKE – BRANCH NEWS

- 51 Generalna skupščina Evropskega združenja bolnišničnih farmacevtov, GA EAHP 2016
- 53 Poročilo z evropskega homeopatskega kongresa na Dunaju
- 55 Častni doktorat prof. dr. Stanetu Srčiču

# PORABA ANTIBIOTIKOV IN ANTIMIKOTIKOV CONSUMPTION OF ANTIBIOTICS AND ANTIMYCOTICS

AVTOR / AUTHOR:

prim. mag. Jurij Fürst, dr. med.

Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije  
Miklošičeva 24, 1507 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

jurij.furst@zzzs.si

## 1 UVOD

Povečevanje odpornosti povzročiteljev okužb je eden največjih izzivov sodobne medicine. Poraba protimikrobnih zdravil je povezana z odpornostjo, zato jih je potrebno preudarno predpisovati. V Sloveniji že več let potekajo številne aktivnosti za obvladovanje porabe antibiotikov (1). Nacionalni koordinator je Komisija za preudarno uporabo antibiotikov pri Ministrstvu za zdravje. Zavod za zdravstveno zavarovanje (ZZZS) že od leta 2000 aktivno sodeluje pri spodbujanju preudarnega predpisovanja. V kazalnike kakovosti predpisovanja za zdravnike splošne/družinske medicine, ki so dostopni na spletni strani ZZZS, so vključeni tudi antibiotiki (2). Ključnim antibiotikom so določene omejitve predpisovanja, ki so predmet nadzorov. Ta prispevek opisuje le porabo zdravil na recept v breme javnih sredstev.

## POVZETEK

Povečevanje odpornosti na antibiotike je eden največjih izzivov sodobne medicine. Odpornost je povezana s porabo protimikrobnih zdravil, zato jih je potrebno preudarno predpisovati. V članku prikazujemo podatke o porabi antibiotikov in antimikotikov v Sloveniji v breme javnih sredstev v obdobju 2001 do 2016. Kljub ugodnim podatkom o znižanju porabe večine antibiotikov se odpornost nekaterih bakterij povečuje.

## KLJUČNE BESEDE:

antibiotiki, antimikotiki, poraba zdravil, preudarno predpisovanje, Slovenija

## ABSTRACT

Rising antibiotic resistance is one of the biggest challenges of modern medicine. Because antibacterial resistance is associated with the consumption of antibiotics, prescribing has to be rational. This paper presents the consumption of antibiotics and antimycotics that were prescribed to outpatients and financed by the national health insurance system in the 2001 to 2016 period. Although the utilization of most antibiotics decreased, data indicate the rising resistance of some bacteria.

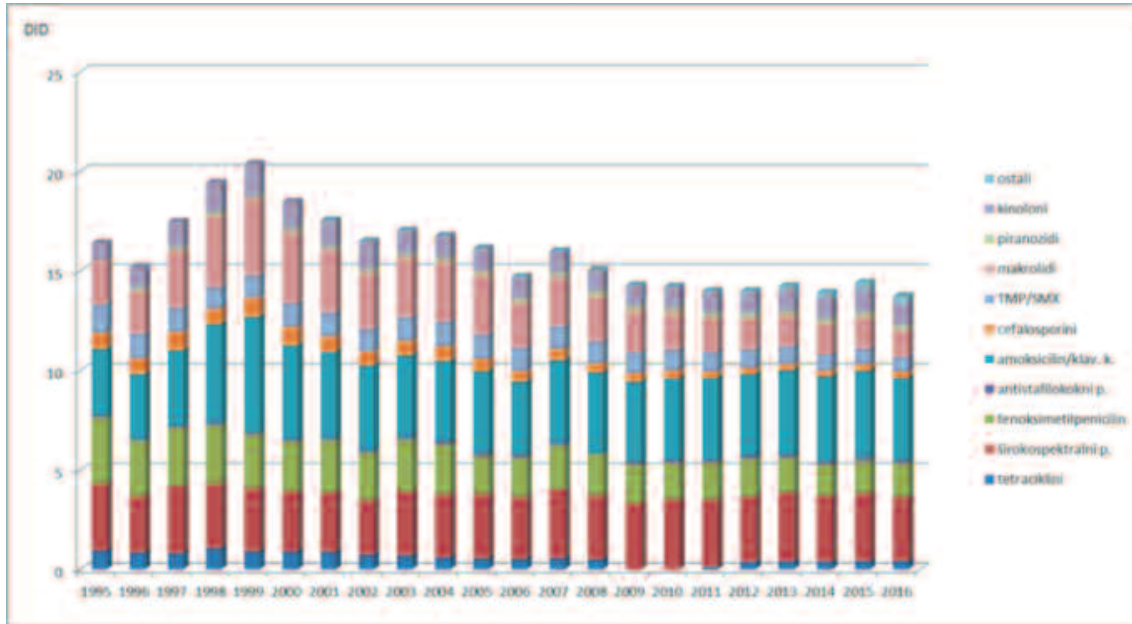
## KEY WORDS:

antibiotics, antimycotics, drug consumption, rational prescribing, Slovenia

## 2 ANTIBIOTIKI

Slovenija sodi med države, ki dobro obvladujejo porabo antibiotikov (ATC J01). V Evropi je glede na porabo, merjeno v definiranih dnevni odmerkih na 1000 prebivalcev na dan (DID), med državami z nizko porabo (3). Slika 1 kaže podatke o porabi v obdobju 1995 do 2016. Pomembnemu zmanjšanju porabe v letih 2000 do 2009 je sledilo obdobje stagnacije z nihanji okrog vrednosti 14 DID, ki se je prevesilo šele v letu 2016, ko se je poraba znižala na 13,7. To je najmanjša vrednost, odkar porabo antibiotikov v Sloveniji merimo po tej metodologiji. Najbolj zaskrbljujoče je povečanje porabe ciprofloksacina, saj se odpornost *Escherichia coli* na kinolone močno povečuje. Poraba makrolidov se je





Slika 1: Poraba antibiotikov (ATC J01) v obdobju 1995 do 2016 v DDD/1000 prebivalcev/dan.

Figure 1: Consumption of antibiotics (ATC J01) in the period from 1995 to 2016 in DDD/1000 inhabitants/day.

zmanjšala za 16 %, a delež azitromicina ostaja previsok, znaša 61 % porabe makrolidov. Azitromicin namreč zaradi svojega dolgega delovanja najbolj spodbuja odpornost med vsemi makrolidi. Poraba midekamicina in miokamicina, ki sta z vidika rezistence najprimernejša makrolida, je vse manjša. Nerešljiv problem je tudi amokisicilin s klavulansko kislino, ki od 2001 ostaja na isti ravni. S tem ostaja neugodno razmerje med kombinacijo s klavulansko kislino in samim amokisicilinom in večje tveganje za odpornost povzročiteljev. Najpomembnejšim antibiotikom z vidika odpornosti so bile določene omejitve predpisovanja. Te so pomembno vplivale na zniževanje njihove porabe (slika 2). Njihov učinek je bil najbolj opazen v prvih letih po določitvi. Makrolidi so izjema, saj je vtis, da se njihova poraba znižuje neodvisno od določitve omejitve. Pri amokisicilinu/klavulanski kislini in kinolonih je učinek omejitev izzvenel, razen ob predpostavki, da omejuje povečanje porabe. Omejitve so tesno povezane z nadzori, ki jih ZZZS na področju predpisovanja antibiotikov redno izvaja.

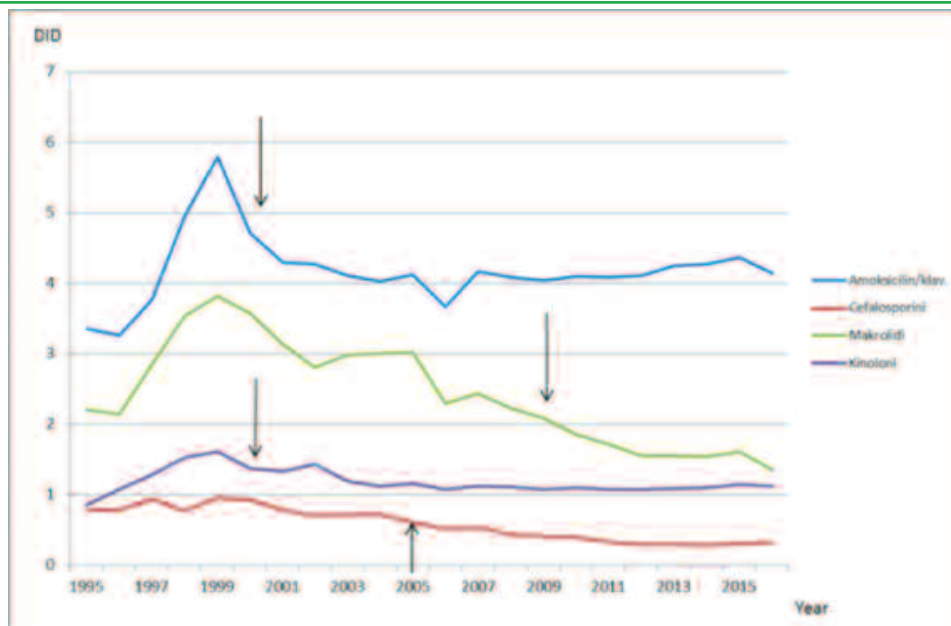
### 3 ODPORNOST

Povečevanje odpornosti na antibiotike vse bolj ogroža varnost bolnikov in postaja globalna grožnja (4). Podatki o

odpornosti v Sloveniji kažejo, da je stanje zaskrbljujoče. Tako je na primer odpornost pnevmokokov (*Streptococcus pneumoniae*) na makrolide kljub zmanjševanju porabe naraščala do leta 2011 in od takrat niha na visoki ravni tik pod 20 % (5). Še bolj zaskrbljujoče je stanje pri najpogostejšem povzročitelju okužb sečil, *E. coli*. Odpornost se ob enaki porabi kinolonov, ki je na ravni 1,1 DID že od leta 2003, vztrajno povečuje in je bila v letu 2015 že 25 % (5).

## 4 SISTEMSKI ANTIMIKOTIKI

Sistemske antimikotike so po klasifikaciji ATC v dveh anatomske skupinah: med zdravili za bolezni kože in podkožja (ATC D01B) in zdravili za sistemske zdravljenje infekcij (ATC J02). Med dermatološkimi antimikotiki je v peroralni obliki le terbinafin (D01BA02), med sistemske (J02) pa sodijo itraconazol, flukonazol, pozakonazol in vorikonazol. Njihova skupna poraba je bila najvišja leta 2005, ko je znašala 1,3 DID. Do leta 2013 se je poraba znižala do 1,0 DID in od takrat ostaja oz. niha na tej ravni. Najpogosteje (75 % skupne porabe) predpisujejo terbinafin, sledijo itraconazol (14 %), flukonazol (10 %), pozakonazol (6 %) in vorikonazol (5 %).



Slika 2: Poraba antibiotikov z omejitvami predpisovanja v obdobju 1995 do 2016 v DDD/1000 prebivalcev/dan. Puščica označuje leto določitve omejitve.

Figure 2: Consumption of antibiotics with prescribing restrictions in the period from 1995 to 2016 in DDD/1000 inhabitants/day. The arrows show the year of restriction setting.

## 5 ANTIMIKOTIKI ZA LOKALNO ZDRAVLJENJE V DERMATOLOGIJI

Podatki o porabi dermatoloških antimikotikov za lokalno uporabo niso celoviti, saj je nekaj zdravil prešlo v režim brez recepta in so jih umaknili z liste zdravil. Njihova poraba je bila najvišja leta 2001 z vrednostjo 10,5 DID. Od takrat se znižuje in je v letu 2016 znašala 7,0 DID. Najpogosteje predpisujejo klotrimazol (49 %) in terbinafin (33 %), mnogo redkeje pa mikonazol (11 %) in ketokonazol (7 %).

## 6 ANTIMIKOTIKI ZA LOKALNO ZDRAVLJENJE V GINEKOLOGIJI

Tudi podatki o porabi ginekoloških antimikotikov niso celoviti, saj jih je del prešlo na režim brez recepta in so jih umaknili z liste zdravil. Njihova poraba se je od leta 2001, ko je znašala 1,5 DID, prepolovila na vrednost 0,7 DID v letu 2016. Sedaj sta razvrščena le mikonazol, ki ga predpišejo v 58 %, in klotrimazol.

## 7 LITERATURA

1. Fürst J, Čížman M, Mrak J et al. The influence of a sustained multifaceted approach to improve antibiotic prescribing in Slovenia during the past decade: findings and implications. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2015; 13(2): 279-289.
2. Bagari Bizjak N, Fürst J, Kramberger B et al. Kakovost predpisovanja zdravil v družinski medicini. *Recept* 2011; 1: 93.95.
3. European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC). Geographical distribution of the consumption of Antibacterials For Systemic Use (ATC group J01) in the community (primary care sector) in Europe, reporting year 2015. <http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial-resistance-and-consumption/antimicrobial-consumption/esac-net-databases/Pages/geo-distribution-consumption.aspx#sthash.xxSWrhO5.dpuf>. Dostop: 20-03-2017.
4. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C et al. Antibiotic resistance – the need for global solutions. *Lancet Infect Dis* 2013; 13(12): 1057-1098.
5. European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC). Surveillance Atlas of Infectious Diseases. <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Instance=GeneralAtlas>. Dostop: 20-03-2017.

# ANTIBIOTIČNA KIRURŠKA PROFILAKSA – OSNOVNI PRINCIPI IN TRAJANJE

## ANTIBIOTIC SURGICAL PROPHYLAXIS – BASIC PRINCIPLES AND DURATION OF TREATMENT

AVTOR / AUTHOR:

dr. Kristina Nadrah, dr. med., mag.farm.,  
spec. infektologije

*Univerzitetni klinični center Ljubljana  
Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja  
Japljeva 2, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:  
kristina.nadrah@kclj.si

## 1 UVOD

Okužbe kirurških ran predstavljajo precejšnje breme za bolnika, podaljšujejo hospitalizacije in lahko vodijo v večjo umrljivost po kirurških posegih (1). V obsežni evropski raziskavi na skoraj 40.000 kirurških bolnikih je pri 3,4 % bolnikov prišlo do okužbe kirurških ran. Ugotovili so, da je umrljivost pri bolnikih z okužbo kirurških ran višja (5,8 % vs. 1,3 %), še posebej pri abdominalnih operacijah in artroplastiki (2).

## POVZETEK

Antibiotična kirurška profilaksa pomembno zmanjša okužbe pooperativnih ran in s tem tudi obolevnost in umrljivost po kirurških posegih zaradi okužb. Ob izbiri ustreznega antibiotika je potrebno upoštevati tako farmakodinamične kot tudi farmakokinetične lastnosti antibiotika. Trajanje antibiotične profilakse dlje od enega dneva ni potrebno, najpogosteje pa predpišemo le en odmerek.

## KLJUČNE BESEDE:

antibiotična kirurška profilaksa, odmerjanje, okužbe kirurških ran, trajanje,

## ABSTRACT

Antibiotic surgical prophylaxis is an important step in diminishing morbidity and mortality from surgical site infections. When choosing the right antibiotic for prophylaxis, it is necessary to consider its pharmacodynamics and pharmacokinetic properties. The duration of antimicrobial surgical prophylaxis over one day is rarely justified.

## KEY WORDS:

dosing, duration, antibiotic surgical prophylaxis, surgical site infections

## 2 RAZDELITEV KIRURŠKIH RAN

Okužbe kirurških ran definiramo kot okužbe mesta reza (povrhnje ali globoke) ali take, ki zajemajo organe ali votline v telesu, ki so odprte med operacijo (3). Večinoma sem prištevamo okužbe kirurške rane, ki se pojavijo znotraj 30 dni po operaciji, v primeru vstavljenih umetnih materialov (npr. endoproteze) pa velja obdobje enega leta po operaciji (3). Med dejavniki tveganja za okužbo kirurške rane so tako lastnosti bolnika kot tudi dolžina operacije, kirurška tehnika in stopnja kontaminacije rane glede na področje, kjer je izveden kirurški poseg (3-5). Kirurške rane lahko glede na stopnjo bakterijske kontaminacije in tveganje za nastanek pooperativne okužbe razdelimo v štiri razrede: čiste, čiste kontaminirane, kontaminirane in umazane ali okužene (5-8). Med čiste rane vštevamo tiste, kjer gre za elektivne operacije v sterilnem področju, brez stika s telesnimi votlinami in brez odmikov od sterilne tehnike. Pri čistih kontaminiranih



ranah gre za elektivne posege, pri katerih pod nadzorovanimi pogoji vstopamo v telesne votline, kjer ni sočasne okužbe ali nepričakovane kontaminacije iz votlih organov. Med kontaminirane rane vštevamo take, pri katerih gre za operacije v vnetem (a ne gnojnem) področju, kadar pride do večje kontaminacije z vsebino votlega organa ali ob večjih odklonih od sterilne tehnike med operacijo. Med umazane ali okužene rane pa prištevamo posege v akutno gnojno vnetje ter posege v področja z veliko devitaliziranega tkiva (5-8). Pri okuženih ranah ne gre več za kirurško antibiotsko profilakso, temveč za zdravljenje prisotne okužbe. Okužb kirurških ran ne moremo preprečiti. Kljub temu pa lahko njihovo število s pravilnim ravnanjem pomembno zmanjšamo. Antibiotična kirurška profilaksa je le en del potrebnih ukrepov za preprečevanje okužbe.

## 3 PRINCIPI KIRURŠKE ANTIBIOTIČNE PROFILAKSE

Za antibiotsko kirurško profilakso se odločimo v primeru tveganih posegov, kjer je verjetnost okužbe kirurške rane velika, ali v primeru posegov, kjer je sicer verjetnost okužbe majhna, posledice za bolnika pa bi bile zelo hude (npr. nevrokirurške čiste operacije) (5, 6, 8).

### 3.1 IZBIRA ANTIBIOTIKA

Idealni antibiotik za antibiotsko kirurško profilakso ima ustrezen spekter delovanja, dovolj dolg razpolovni čas, dobro prehaja v tkiva, kjer dosega dovolj velike koncentracije, nima neželenih učinkov in ne vpliva na razvoj protimikrobne odpornosti (8).

Okužbo kirurške rane večinoma povzroči bolnikova flora, lahko pa tudi flora na rokah osebja ali mikroorganizmi na inštrumentih, če ti niso bili ustrezno sterilizirani. Verjetnost, da pride do okužbe, je sorazmerna z odmerkom bakterijske kontaminacije in virulenco bakterij ter obratno sorazmerna z odpornostjo bolnika za okužbe (4). Pričakovane povzročitelje glede na mesto operacije prikazuje preglednica 1. Pri čistih operacijah izberemo cefazolin, ki deluje na stafilokoke, streptokoke in nekatere po Gramu negativne bakterije. V primeru alergije na penicilin ali vnaprej znane kolonizacije z na meticilin odpornim *Staphylococcus aureus* (MRSA) predpišemo vankomicin. Za vankomicin se pogosto odločimo tudi v primeru revizij, saj takrat pričakujemo odporno bolnišnično floro.

Pri drugih operacijah izberemo antibiotik ali kombinacijo antibiotikov glede na pričakovano kontaminacijo. Tako v

primeru operacij na kolonu krijemo predvsem po Gramu negativne bakterije in anaerobe z gentamicinom in metronidazolom. Upoštevati moramo tudi podatke o lokalni občutljivosti bakterij. V primeru precejšnje odpornosti na antibiotik takega antibiotika ne predpisujemo za profilakso. V letu 2014 so objavili slovenske smernice za uporabo profilaktičnih antibiotikov v abdominalni kirurgiji (9) in nevrokirurgiji (10), ki natančno definirajo posege, pri katerih je primerna antibiotska profilaksa, in odmerke ter trajanje antibiotske profilakse.

### 3.2 ČAS APLIKACIJE

Na pojav okužb kirurških ran vpliva tudi čas aplikacije antibiotika. V prospektivni raziskavi, v kateri so primerjali dajanje antibiotikov v definiranih časovnih intervalih pred prvim rezom in po njem, so dokazali, da je najmanj okužb kirurških ran, če je antibiotik dan največ dve uri pred prvim rezom, z vsako uro po rezu pa delež okužb narašča (11). Optimalno okno za aplikacijo antibiotika naj bi bilo znotraj 60 minut pred prvim rezom (5, 8), čeprav tega nedavna retrospektivna raziskava ni dokazala (12). Kljub temu pa so v tej raziskavi prav tako beležili več okužb kirurških ran, če je bil antibiotik dan prezgodaj (prej kot v 60 min pred prvim rezom) (12). Antibiotike, ki jih dajemo v obliki daljše infuzije, apliciramo tako, da je infuzija zaključena znotraj 60 minut do prvega reza (npr. vankomicin) (8).

### 3.3 ODMERJANJE

Pri odraslih večinoma dajemo standardizirane odmerke antibiotikov, ki jih uporabljamo tudi za zdravljenje, saj so v večini primerov učinkoviti, s tem pa zmanjšamo možnost napak odmerjanja zaradi napak pri izračunu odmerka (8). V primeru večjih odklonov od telesne mase (npr. pri zelo debelih bolnikih) pa nekateri svetujejo zvečanje odmerkov, saj z običajnim odmerjanjem ne dosegamo zadostnih koncentracij v tkivih (8). Podatki iz raziskav so skopi, prav tako ni povsem jasno, ali smemo uporabiti dejansko ali idealno maso za izračun večjega odmerka. Nekateri tako priporočajo odmerek cefazolina 2 g v primeru telesne mase nad 80 kg in 3 g v primeru telesne mase nad 120 kg (8).

Odmerjanje gentamicina pri bolnikih, ki za 20 % presejajo svojo idealno maso, lahko izračunamo tako, da odmerku, ki je izračunan za idealno telesno maso, dodamo 40 % razlike med dejansko in idealno telesno maso. Večinoma priporočajo enkratni odmerek gentamicina od 4,5 do 5 mg/kg telesne mase, ki je ob uporabi za kirurško profilakso varen in učinkovit (7, 8). Odmerjanje vankomicina je razli-



čno, v povprečju pa ga uporabljamo 15 mg/kg (največji odmerek 2 g), pri čemer za izračun uporabljamo dejansko telesno maso (8).

V primeru dlje časa trajajoče operacije je včasih potrebna ponovna aplikacija odmerka antibiotika. Pri odločitvi o ponovljenem odmerku upoštevamo njegov razpolovni čas in bolnikovo ledvično funkcijo (preglednica 2). Odmerek ponovimo po približno dveh razpolovnih časih (v primeru normalne ledvične funkcije). Odmerek ponovimo tudi v primeru izgube krvi nad 1500 ml. Odmerka aminoglikozidov ne ponavljamo prej kot v 24 urah, saj so v raziskavah dokazali, da je en večji dnevni odmerek (4 do 5 mg/kg) enako učinkovit kot trije manjši odmerki (1,5 mg/kg/8 h) (8).

### 3.4 TRAJANJE PROFILAKSE

Pri pravi kirurški profilaksi večinoma zadostuje en odmerek antibiotika (6-8). Kirurško profilakso podaljšamo izjemoma do največ 24 ur, npr. pri operacijah na srcu, predvsem zaradi pomanjkanja dobrih podatkov, in pri ortopedskih operacijah (8). Podatki iz norveškega registra artroplastik kažejo, da je v primeru vstavljanja ortopedskih vsadkov 24-urna profilaksa (štiri odmerki antibiotika) bolj učinkovita kot le en do tri odmerki antibiotika (13). Predpisovanje več

kot štirih odmerkov antibiotične profilakse pa ni imelo prednosti (13), zato pri ortopedskih operacijah z vstavitvijo umetnega materiala priporočajo štiri odmerke antibiotika (7). V primeru umazanih ali okuženih ran gre za zdravljenje in ne profilakso, čeprav morajo bolniki prav tako prejeti perioperativni odmerek antibiotika. Dolžina zdravljenja je v teh primerih odvisna od vrste okužbe in uspešnosti kirurške odstranitve vnetja.

## 4 SKLEP

Okužbe kirurških ran pomembno povečajo obolevnost in umrljivost. Pravilno izbrana in aplicirana antibiotična kirurška profilaksa lahko pomembno zmanjša infekcijske zaplete po operaciji. Potrebne pa bodo še številne raziskave predvsem na področju odmerjanja antibiotikov pri posebnih populacijah (npr. debelih bolnikih) in na področju trajanja profilakse, saj so podatki, ki so trenutno na voljo, pomanjkljivi.

**Preglednica 1:** Povzročitelji okužb kirurških ran glede na vrsto operativnega posega (3, 7).

**Table 1:** Surgical site pathogens (3, 7).

Operacija	Verjetni mikroorganizmi
Vstavev umetnih materialov	<i>Staphylococcus aureus</i> , KNS, difteroidi
Srčna	<i>S. aureus</i> , KNS
Nevrokirurška	<i>S. aureus</i> , KNS
Na dojkah	<i>S. aureus</i> , KNS
Očesna	<i>S. aureus</i> , KNS, streptokoki, gram-negativni bacili
Ortopedska	<i>S. aureus</i> , KNS, gram-negativni bacili
Torakalna	<i>S. aureus</i> , KNS, pnevmokok, gram-negativni bacili
Žilna	<i>S. aureus</i> , KNS
Gastroduodenalna	po Gramu negativni bacili, streptokoki, orofaringealni anaerobi
Biliarni trakt	po Gramu negativni bacili, anaerobi
Apendektomija	po Gramu negativni bacili, anaerobi
Kolorektalna	po Gramu negativni bacili, anaerobi
Glava in vrat – poseg skozi usta	<i>S. aureus</i> , streptokoki, orofaringealni anaerobi
Ginekološka	po Gramu negativni bacili, enterokoki, streptokoki skupine B, anaerobi
Urološka	po Gramu negativni bacili

Preglednica 2: Priporočeni intervali za ponovitev odmerka med operacijo (8).

Table 2: Recommended intervals for redosing of antibiotics (8).

Antibiotik	$t_{1/2}$ (h)	Čas posega (h)
Ampicilin/sulbaktam	0.8–1.3	2
Cefazolin	1.2–2.2	4
Cefuroksim	1–2	4
Klindamicin	2–4	6
Ciprofloksacin	3–7	8
Metronidazol	6–8	8
Vankomicin	4–8	8–12

## 5 LITERATURA

1. Coello R, Charlett A, Wilson J et al. Adverse impact of surgical site infections in English hospitals. *J Hosp Infect* 2005; 60: 93-103.
2. Astagneau P, Rioux C, Golliot F et al. Morbidity and mortality associated with surgical site infections: results from the 1997–1999 INCISO surveillance. *J Hosp Infect* 2001; 48: 267-274.
3. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML et al. *Guideline for Prevention of Surgical Site Infection*, 1999. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control* 1999; 27: 97-132.
4. Owens CD, Stoessel K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *J Hosp Infect* 2008; 70: 3-10.
5. Talbot TR. Surgical Site Infections and Antimicrobial Prophylaxis. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases: 3891–904.
6. Anon. Global Guidelines for the Prevention of Surgical Site Infection. World Health Organization; 2017.
7. Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Antibiotic prophylaxis in surgery: a national clinical guideline. Scottish Intercollegiate Guidelines Network; 2008.
8. Bratzler DW, Dellinger EP, Olsen KM et al. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Am J Health Syst Pharm* 2013; 70: 195-283.
9. Pintar T, Trotovšek B, Beovič B. Smernice za profilaktično uporabo antibiotikov v abdominalni kirurgiji za odrasle. *Zdr Vestn* 2014; 83: 651-660.
10. Saje A, Porčnik A, Koršič M, Beovič B. Slovenske smernice za uporabo antibiotične profilakse pri nevrokirurških operacijah. *Zdr Vestn* 2014; 83: 363-367.
11. Classen DC, Evans RS, Pestotnik SL et al. The Timing of Prophylactic Administration of Antibiotics and the Risk of Surgical-Wound Infection. *N Engl J Med* 1992; 326: 281-286.
12. Hawn MT, Richman JS, Vick CC et al. Timing of surgical antibiotic prophylaxis and the risk of surgical site infection. *JAMA Surg* 2013; 148: 649.
13. Engesaeter L, Lie SA, Espehaug B et al. Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty. Effects of antibiotic prophylaxis systemically and in bone cement on the revision rate of 22,170 primary hip replacements followed 0-14 years in the Norwegian Arthroplasty Register. *Acta Orthop Scand* 2003; 74: 644-651.



# ZDRAVLJENJE Z LOKALNIMI ANTIMIKOTIKI – KJE SO TEŽAVE?

## TREATMENT WITH TOPICAL ANTIMYCOTICS – WHAT ARE THE DIFFICULTIES?

AVTOR / AUTHOR:

Teja Glavnik, mag. farm.

*Celjske lekarne javni zavod  
Miklošičeva ulica 1, 3000 Celje*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:  
teja.glavnik@gmail.com

## 1 UVOD

Po nekaterih podatkih ima površinsko glivično okužbo 20 do 25 % svetovne populacije, kar jo uvršča med najpogostejše bolezni (1). Naraščanje števila okuženih ljudi naj bi bilo povezano s spremenjenim načinom življenja, staranjem prebivalstva ter pogosto uporabo širokospektralnih antibiotikov in zdravil, ki zmanjšajo imunsko odpornost (2). Obravnava glivičnih okužb kože in sluznic v lekarni je zelo

## POVZETEK

Pri delu v lekarni se farmacevti s pripravki za zdravljenje površinskih glivičnih okužb srečujemo dnevno, saj spadajo glivične okužbe kože med najpogostejše bolezni. Na tržišču obstaja ogromno pripravkov, za katere nimamo vedno podatkov o učinkovitosti. Tudi pri registriranih zdravilih, ki so varna, kakovostna in učinkovita, pa lahko naletimo na neučinkovitost zaradi neupoštevanja preventivnih ukrepov in prekratke uporabe.

## KLJUČNE BESEDE:

Površinske antimikotiki, glivične okužbe, preventivni ukrepi, razlike v učinkovitosti, sodelovanje bolnika

## ABSTRACT

While working in a community pharmacy, pharmacists are in contact with the treatment of superficial fungal infections on a daily basis, as they represent one of the most common diseases. The market is saturated with products with sometimes questionable effectiveness. Even registered medicines with proved safety, quality and effectiveness can turn out to be ineffective because of lack of preventive measures or too short duration of use.

## KEY WORDS:

adherence, antimycotics, prevention, differences in effectiveness, superficial fungal infections

pogosta in lahko tudi težavna. Na tržišču obstaja veliko registriranih zdravil in tudi drugih izdelkov, med katerimi lekarniški farmacevti včasih težko izberemo pravega za posameznega bolnika.

## 2 ZNAČILNOSTI POVRŠINSKIH GLIVIČNIH OKUŽB

### 2.1 KLINIČNA SLIKA

Klinična slika glivične okužbe kože in sluznic je odvisna od vrste povzročitelja, mesta okužbe in imunskega odziva okužene osebe. Vsem tipom glivičnih okužb je skupno, da so nalezljive in jih moramo zdraviti dolgotrajno, saj spontane ozdravitve ni. Nezdravljene glivične okužbe niso samo neprijetne, ampak lahko vodijo do resnejših zapletov. Ker

zmanjšajo odpornost kože, lahko vodijo do pridruženih bakterijskih okužb, širijo se lahko na druge ljudi, v globlje plasti kože in pri imunsko oslabilih bolnikih povzročajo sistemske okužbe (3, 1).

## 2.2 POVZROČITELJI

Za razvoj glivične okužbe je ključna poškodba kože, ki omogoča povzročitelju vstop v telo (4). Površinske okužbe kože v največji meri povzročajo dermatofiti, manj pogosto kvasovke in zelo redko plesni. Dermatofiti izločajo encime, ki omogočajo hranjenje s keratinom iz rožene plasti povrhnjice in navadno ne prehajajo v globlje plasti kože in ne povzročajo sistemskih mikoz. Lahko se prenašajo med ljudmi (antropofilni dermatofiti) ali pa iz živali na ljudi (zoofilni), redkeje pa izvirajo iz okužene zemlje (geofilni dermatofiti). Med kvasovkami površinske mikoze najpogosteje povzročajo glive iz rodu *Candida*, ki lahko pri nezdravljenih imunsko oslabilih bolnikih povzročajo tudi sistemske kandidoze (2).

# 3 PREVENTIVNI UKREPI

Pri svetovanju bolniku z glivično okužbo kože v lekarni je nujno, da ga ne pozabimo poučiti o načinih, kako se ponovni okužbi izogne, saj je zdravljenje dolgotrajno in so ponovitve bolezni pogoste. Izogibati se morajo agresivnim čistilnim sredstvom (mila, šamponi), ki lahko zmanjšajo funkcijo naravnega zaščitnega sloja kože. Ker glivice za razvoj potrebujejo vlažno okolje, mora bolnik paziti, da so problematični deli kože (stopala, kožne gube) čim bolj suhi. Pogost vir okužbe je stik z okuženo osebo, zato je pomembno, da si osebni predmetov, ki so lahko vir okužbe (brisače, nogavice, glavniki) ne izposojamo, v skupnih prostorih za umivanje in kopališčih pa uporabljamo zaščitno plastično obutev. Vir nekaterih glivičnih okužb so okužene živali, zato se je priporočljivo izogibati stikom z neznanimi psi in mačkami (5).

# 4 SINTEZNI ANTIMIKOTIKI

## 4.1 SPEKTER DELOVANJA

Prva izbira pri zdravljenju površinskih glivičnih okužb so sintezni antimikotiki. Najpogosteje uporabljamo učinkovine

iz skupine azolov in alilaminov. V Sloveniji so za lokalno zdravljenje registrirani kot zdravila brez recepta: azoli – klotrimazol, mikonazol, ketokonazol, bifonazol, alilamini – terbinafin in naftifin ter učinkovina, ki spada med druge antimikotike – ciklopiroks. Azoli imajo v splošnem širši spekter delovanja, saj so učinkoviti proti dermatofitom, kvasovkam in v manjši meri tudi proti po Gramu pozitivnim bakterijam. Alilamini so učinkovitejši pri zdravljenju okužb z dermatofiti kot s kvasovkami, delujejo pa delno tudi proti po Gramu pozitivnim in Gramu negativnim bakterijam. Terbinafin, naftifin, bifonazol, ketokonazol in ciklopiroks izkazujejo tudi blago protivnetno delovanje in so primerni za zdravljenje močno srbečih in vnetih predelov okužene kože (6).

## 4.2 RAZLIKE MED PREDSTAVNIKI

Lekarniški farmacevt ima pri izbiri najprimernejšega lokalnega antimikotika za bolnika težavno delo. Prvi problem predstavlja identifikacija povzročitelja okužbe in izbira najučinkovitejšega zdravila, kar pa glede na izsledke metaanaliz o učinkovitosti zdravljenja najpogostejših glivičnih okužb ni ključnega pomena, saj statistično značilnih razlik med azoli in alilamini ni (7, 8).

## 4.3 POSEBNE SKUPINE BOLNIKOV

Pred začetkom zdravljenja je pomembno vedeti, komu je zdravilo namenjeno in kje na telesu se je okužba pojavila. Najbolj ranljiva skupina bolnikov so dojenčki, pri katerih zaradi lokalnega draženja in vlažnosti pogosto prihaja do glivičnih okužb kože pod plenico in ob peroralni antibiotični terapiji do ustne kandidoze (soor). Pri obravnavi dojenčkov je navadno potrebna napotitev k zdravniku, saj moramo izključiti morebitne druge okužbe in odkriti vzrok za zmanjšano odpornost organizma (5).

Ključnega pomena je tudi, kako dolgo že bolnik opaža spremembe. Bolniki ukrepajo navadno šele tedaj, ko jih sprememba začne ovirati pri vsakodnevnih opravilih zaradi srbečice ali pa je estetsko moteča. Površinske glivične okužbe lahko s sintezni antimikotiki zelo učinkovito pozdravimo, če jih začnemo zdraviti dovolj zgodaj; predvsem navedeno velja za zelo trdovratne glivične okužbe nohtov. V primeru, da je okužena površina kože velika ali pa sprememba zajema celoten noht, je za učinkovito zdravljenje potreben sistemski antimikotik, zato takega bolnika napotimo z zdravniku (2).

## 4.4 PRAVILNA UPORABA

Najbolj pereč problem pri zdravljenju površinskih glivičnih okužb je ustrezna aderenza bolnika in dovolj dolgo trajanje



zdravljenja. Topikalne preparate je potrebno na kožo oz. noht nanašati od enkrat do trikrat na dan, prednost imajo zaradi boljšega sodelovanja bolnikov preparati, ki jih je potrebno nanesti samo enkrat na dan. Trajanje zdravljenja je odvisno od mesta, globine in stadija okužbe, načeloma pa moramo zdravljenje nadaljevati vsaj nekaj dni do dva tedna po prenehanju vseh simptomov okužbe (3).

#### 4.5 ZDRAVLJENJE OKUŽB NOHTOV

Predvsem pri zdravljenju glivičnih okužb nohtov se soočamo s še eno pomembno težavo. Okužba se dogaja znotraj nohta, zato mora tudi zdravilna učinkovina prehajati v trdo, roževinasto tkivo nohta. Učinkovitost zdravljenja je večja pri uporabi lakov, gelov in raztopin, ker je noht bolj prepusten za vodo kot koža in zdravila v obliki krem in mazil ne omogočajo dostopa učinkovine v globino nohta (9). Za lajšanje prehoda učinkovine v noht je priporočljivo okužen noht mehansko odstraniti s piljenjem ali striženjem ali pa uporabiti keratinolitike (20- do 40-odstotna sečnina, salicilna kislina). V zdravilnih lakih za nohte najdemo tudi druge pospeševalce penetracije učinkovine v noht, kot so merkaptani, sulfiti, bisulfiti in keratolitični encimi (10).

## 5 ZDRAVILNE RASTLINE

Zdravila naravnega izvora tradicionalno uporabljamo tudi za zdravljenje površinskih glivičnih okužb in v zadnjem času ponovno doživljajo večjo prepoznavnost. V literaturi najdemo veliko podatkov o učinkovitosti zdravilnih rastlin pri zdravljenju glivičnih okužb kože in sluznic, a zelo malo kliničnih raziskav, ki imajo zelo različne rezultate.

### 5.1 RAZLOGI ZA SLABO DOKAZANO UČINKOVITOST

Glavna težava pri kliničnem preizkušanju pripravkov naravnega izvora je njihova kompleksna kemijska sestava. Rastlinski pripravki namreč vsebujejo veliko različnih spojin, pri katerih so nekatere farmakološko aktivne, druge pa sinergistično prispevajo k delovanju pripravka. Zaradi tega včasih težko identificiramo spojino, ki je nosilec delovanja pripravka, in kakšen je mehanizem delovanja te spojine. Vsebnost spojin v zdravilnih rastlinah je odvisna od veliko dejavnikov, kot so del rastline, ki ga uporabimo, čas nabiranja, rastišče, način sušenja in pa tudi način predelave in proizvodni postopek rastlinskega pripravka (11).

### 5.2 UČINKOVITE ZDRAVILNE RASTLINE

V zadnjem času je nekaj kliničnih raziskav pokazalo velik potencial eteričnih olj pri preprečevanju in zdravljenju okužb z dermatofiti. Pri sinteznih učinkovinah namreč zaradi široke uporabe pri zdravljenju in preprečevanju okužb pri imunokompromitiranih bolnikih namreč prihaja do odpornosti nekaterih sevov dermatofitov na sintezne antimikotike. Eterična olja imajo pomembno vlogo pri obrambi rastline proti okužbam, zato aromatične rastline in njihova eterična olja že tradicionalno veljajo za učinkovita pri zdravljenju površinskih glivičnih okužb (12). Žal so podatki o učinkovitosti pripravkov iz zdravilnih rastlin pogosto samo empirični, kar je posledica slabe raziskanosti tega področja. Večje število raziskav kaže na učinkovitost nekaterih zdravilnih rastlin, kot so eterično olje čajne mirte (*Melaleuca alternifolia*), eterično olje grenkega pomarančevca (*Citrus aurantium*) in česen (*Allium sativum*), tako v primerjavi s placebom kot s sinteznimi antimikotiki. Učinkovitost je v splošnem manjša kot pri zdravilih sinteznega izvora, kažejo pa velik potencial kot dodatek k terapiji s sinteznimi antimikotiki. Nekaj podatkov je tudi o učinkovitosti eteričnih olj dišečega klinčevca (*Eugenia caryophyllata*), kurkume (*Curcuma longa*), cimeta (*Cinnamomum zeylanicum*), timijana (*Thymus vulgaris*), sivke (*Lavandula angustifolia*) in limonske trave (*Cymbopogon citratus*) (13, 14, 15).

#### POMEMBNO JE VEDETI:

Glivične okužbe kože niso samo neprijetne, ampak lahko pri imunsko oslabljenih bolnikih vodijo v sistemske glivične okužbe, ki so lahko zelo nevarne. Sintezni antimikotiki naj bi se razlikovali v spektru delovanja na glive in bakterije, a metaanalize niso potrdile pomembnih razlik pri zdravljenju okužb kože. Pripravke iz aromatičnih zdravilnih rastlin tradicionalno veliko uporabljamo za zdravljenje glivičnih okužb kože. V literaturi je malo jasnih dokazov o njihovi učinkovitosti v primerjavi s sinteznimi antimikotiki, spodbudni pa so podatki o izboljšanju učinka pri kombiniranju sinteznih antimikotikov in eteričnih olj.

## 6 ZAKLJUČEK

Zaradi vedno večje razširjenosti in naraščanja števila bolnikov s tveganjem za napredovanje površinskih glivičnih okužb v sistemske glivične okužbe moramo okuženim bol-

nikom posvetiti posebno pozornost tudi pri obravnavi v lekarni. Težave pri obravnavi bolnika s površinsko glivično okužbo izvirajo iz postavitve diagnoze, izbire zdravila in sodelovanja bolnika. Možnosti za učinkovito zdravljenje je veliko, vendar je ključnega pomena pravilna in dovolj dolgotrajna uporaba zdravilnih pripravkov.

## 7 LITERATURA

1. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses* 2008; 51 Suppl 4: 2-15.
2. Orešič Barač T. Najpogostejše mikoze kože in nohtov pri mladostnikih in odraslih- epidemiologija in klinična slika. *Farm Vestn* 2014; 65: 87-92.
3. Dolenc-Voljč M. Zdravljenje glivičnih okužb kože. *Farm Vestn* 2006; 57: 93-95.
4. Guegan S, Lanternier F, Rouzaud C et al. Fungal skin and soft tissue infections. *Curr Opin Infect Dis* 2016; 29(2): 124-130.
5. Pal M. Glivične okužbe kože. In: Pisk N. Samozdravljenje, priročnik za bolnike. Slovensko farmacevtsko društvo; 2011: 95-103.
6. Pal M. Možnosti zdravljenja najpogostejših dermatomikoz pri odraslih in mladostnikih. *Farm Vestn* 2014; 65: 93-99.
7. Rotta I, Otuki MF, Sanches AC et al. Efficacy of topical antifungal drugs in different dermatomycoses: a systematic review with meta-analysis. *Rev Assoc Med Bras* 2012; 58: 308-318.
8. Rotta I, Ziegelmann PK, Otuki MF et al. Efficacy of topical antifungals in the treatment of dermatophytosis: a mixed-treatment comparison meta-analysis involving 14 treatments. *JAMA Dermatol* 2013; 149: 341-349.
9. de Berker D. Clinical practice. Fungal nail disease. *N Engl J Med* 2009; 360: 2108-2116.
10. Torkar A, Kristl J, Murdan S. Novosti o dostavljanju učinkovin v nohte. *Farm Vestn* 2007; 58: 15-20.
11. Kočevar Glavač N, Stojilkovski K. Klinične raziskave v fitoterapiji. *Farm Vestn* 2013; 64: 112-117.
12. Kumar R, Shukla SK, Pandey A, Pandey H, Pathak A and Dikshit A: Dermatophytosis: infection and prevention – a review. *Int J Pharm Sci Res* 2016; 7(8): 3218-3225.
13. Martin KW, Ernst E. Herbal medicines for treatment of fungal infections: a systematic review of controlled clinical trials. *Mycoses* 2004; 47(3-4): 87-92.
14. Uma K, Huang X, Kumar BA. antifungal effect of plant extract and essential Oil. *Chin J Integr Med* 2017; 23(3): 233-239.
15. Flores FC, Beck RC, da Silva Cde B. essential oils for treatment for onychomycosis: A Mini-Review. *Mycopathologia* 2016; 181(1-2): 9-15.



# PRILAGAJANJE ODMERKOV PROTIMIKROBNIH ZDRAVIL

## DOSE ADJUSTMENTS OF THE ANTIMICROBIAL DRUGS

AVTOR / AUTHOR:

Polonca Drogenik, mag. farm., spec.

*UKC Maribor, Lekarna*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

polonca.drogenik@triera.net

## 1 UVOD

Pri zdravljenju s protimikrobnimi zdravili se pogosto srečujemo z vprašanjem, ali je za vse bolnike ustrezen enak odmerni režim. Osnovne podatke o prilagajanju najdemo v povzetkih osnovnih značilnosti zdravil (SmPC), vendar se le-ti pogosto nanašajo zgolj na izbiro režima pri različnih indikacijah in najpogostejših pridruženih boleznih. Ko iščemo podrobnejše napotke, pa se pogosto srečamo z navedkom, da pri določeni skupini bolnikov zdravilo ni bilo preizkušeno ali da obstaja premalo podatkov, zato se uporaba odsvetuje. Zaradi omejenega nabora učinkovin in naraščajoče bakterijske odpornosti mnogokrat nimamo veliko alternativnih možnosti. V takem primeru skušamo izbrati za bolnika najoptimalnejše odmerjanje, upoštevaje lastnosti izbranega protimikrobnega zdravila, bolnikove fiziološke in patofiziološke značilnosti ter značilnosti okužbe. Namen prispevka je prikazati bistvene elemente pri procesu optimizacije odmerkov protimikrobnih zdravil.

## POVZETEK

Osnovni principi prilagajanja odmerjanja protimikrobnih zdravil temeljijo na njihovi hidro- oz. liposolubilnosti ter na njihovih FK/FD profilih učinkovitosti. Za učinkovine s časovno odvisnim delovanjem je optimalni indeks učinkovitosti čas, ko je koncentracija proste učinkovine večja od MIK, medtem ko je za koncentracijsko odvisne najboljši indeks učinkovitosti  $C_{max}/MIK$ . Za nekatere učinkovine je pomembno tudi razmerje med  $AUC/MIK$ , tem pripisujemo mešani tip delovanja.

Pri bolnikih s povečano telesno je navodil za prilagajanje odmerjanja malo; študije nakazujejo, da je pri nekaterih učinkovinah potrebno odmerke povečati. Prilagajanje odmerkov pri spremenjeni ledvični funkciji je potrebno zlasti za hidrofilne učinkovine. Pri napredovali jetrni okvari prilagajamo odmerke učinkovin, ki imajo zmanjšan očistek. Najbolj kompleksno je prilagajanje odmerkov pri kritično bolnih. Pri stanjih s povečanim volumnom distribucije je potrebno preprečiti subterapevtsko odmerjanje, pri stanjih zmanjšane eliminacije pa preprečiti kumulacijo in toksične učinke zdravil, pri čemer nam je lahko v veliko pomoč TDM.

## KLJUČNE BESEDE:

protimikrobna zdravila, prilagajanje odmerkov, FK/FD indeks učinkovitosti, kritično bolni

## ABSTRACT

The basic principles of dose adjustments of the antimicrobial drugs are based on their hydro- or liposolubility as well as on their specific PK/PD goals. For the time-dependent antibiotics, the goal is to optimize the duration of drug exposure above the MIC. For the concentration-dependent antibiotics, the goal is to achieve a certain  $C_{max}/MIC$  ratio. For some antimicrobials with a mixed profile of action, the best goal is  $AUC/MIC$  ratio.

In overweight patients there are very few recommendations on how to adjust the dose; newer data suggests that larger doses are required for certain drugs. In renal failure we adjust doses for the hydrophilic antibiotic. In advanced liver disease there should be some dose adjustments for the drugs with reduced elimination. The most complex dose adjustments are needed in the critically ill. When the volume of distribution is enlarged, subtherapeutic



drug levels should be prevented, and when the elimination of the drug is reduced, we must prevent cumulation and toxic effects. In both cases we could profit from the use of TDM.

#### KEY WORDS:

antimicrobial agents, dose adjustment, specific PK/PD goal, critically ill

V pregled ni zajeto prilagajanje odmerkov pri otrocih, bolnikih na nadomestnem ledvičnem zdravljenju in zdravljenju kroničnih okužb s protivirusnimi zdravili.

## FARMAKOKINETIČNE IN FARMAKODINAMIČNE LASTNOSTI PROTIMIKROBNIH ZDRAVIL

Protimikrobna zdravila so po svojem delovanju edinstvena, saj učinkujejo tako na povzročitelja bolezni kot na gostitelja. Uspeh zdravljenja tako ni odvisen zgolj od farmakoloških lastnosti zdravila, ampak tudi od mesta okužbe, lastnosti patogena, njegove virulentosti, odpornosti in sposobnosti tvorbe biofilma, pa tudi različnih z bolnikom povezanih dejavnikov, ki vplivajo na proces zdravljenja (1).

### 1.1 FARMAKOKINETIKA (FK) PROTIMIKROBNIH ZDRAVIL

Farmakokinetika učinkovin je opisana s spremembo koncentracije skozi čas. Pri protimikrobnih zdravilih iz praktičnih razlogov uporabljamo plazemsko ali serumsko koncentracijo kot nadomestilo za koncentracijo v tkivih (1). Način in hitrost vstopa učinkovine v telo, njeno porazdelitev po telesu, metabolizem in eliminacijo iz telesa lahko poenostavljeno prikažemo s koncentracijsko-časovno krivuljo. Oblika krivulje se spremeni, če se spremeni kateri koli del procesa.

#### 1.1.1 ABSORPCIJA

Za dobro absorpcijo učinkovine iz prebavil so pomembne njene fizikalno kemijske lastnosti: molekulska masa, topnost v vodnih raztopinah, relativna lipofilnost za prehajanje fizioloških membran v prebavilih, ionizacija in kemijska stabilnost v kislem pH (2). Biološko uporabnost učinkovin je lahko zmanjšana zaradi močno izraženega fenomena prvega prehoda skozi jetra. Na obseg absorpcije lahko pomembno vplivajo tudi hrana, druga zdravila in nekatera bolezenska stanja. Pri kritično bolnih pacientih peroralna aplikacija pro-

timikrobnih zdravil ni primerna zaradi nezanesljivosti in počasnega začetka delovanja (2, 3, 4). Na obliko absorpcijskega dela krivulje lahko vplivamo na različne načine: npr. izbira farmacevtske oblike definira obseg absorbirane učinkovine, z večjo hitrostjo dovajanja učinkovine v sistem pa se poveča največja dosežena koncentracija ( $C_{max}$ ).

#### 1.1.2 DISTRIBUCIJA

Kolikšen navidezni porazdelitveni volumen ( $V_d$ ) bo učinkovina dosegla, je odvisno od njene liposolubilnosti, porazdelitvenega koeficienta med tkivi, prekrvljenosti posameznega tkiva, od pH in od vezave na plazemske proteine (2). Pri nekaterih bolezenskih stanjih se  $V_d$  lahko izrazito poveča, kar ima za posledico nižje plazemske koncentracije (2, 3). Za učinkovine, ki se v veliki meri vežejo na plazemske beljakovine, predstavlja vezana frakcija rezervoar, iz katerega se učinkovina počasi sprošča. Le prosta, nevezana učinkovina je protimikrobno učinkovita. Pri stanjih, ko je plazemskih beljakovin premalo, je več učinkovine proste, kar pomeni po eni strani večji učinek, po drugi strani pa tudi hitrejši metabolizem in eliminacijo (4).

#### 1.1.3 METABOLIZEM

Reakcije metabolizma potekajo dvostopenjsko. Prva faza poteka pretežno preko encimskega sistema citokroma P-450 (CYP). Med tem procesom se učinkovine bodisi inaktivirajo, aktivirajo ali pretvorijo iz aktivnih substratov v druge, prav tako aktivne substrate (1). Učinek presnovka je lahko večji, manjši ali enak tistemu, ki ga izkazuje prvotna učinkovina. Hrana, druga zdravila in različna bolezenska stanja lahko povzročijo inhibicijo ali indukcijo tega procesa, aktivnost encimov pa je odvisna tudi od genskega polimorfizma. V drugi fazi metabolizma poteka konjugacija učinkovin z večjimi molekulami, kar poveča polarnost spojine in omogoči njeno eliminacijo.

#### 1.1.4 ELIMINACIJA

Površina pod krivuljo (Area Under the Curve - AUC) v nekem časovnem obdobju je sorazmerna z velikostjo odmerka in obratno sorazmerna s celokupnim očistkom zdravila. Le-ta je vsota ledvičnega in neledvičnega očistka. Zlasti ledvični očistek je neredko ozko grlo systemske eliminacije protimikrobnih zdravil.

Farmakokinetika protimikrobnih zdravil izkazuje pomembno inter-individualno variabilnost. Pri strategiji optimizacije odmerjanja nam je lahko v pomoč populacijska farmakokinetika, saj povezuje vzroke variabilnosti in vrednoti njihov pomen z uporabo systemske analize.



### 1.1.5 HIDROFILNE IN LIPOFILNE PROTIMIKROBNE UČINKOVINE

Na FK posamezne učinkovine bistveno vpliva njena hidro- ali lipofilnost (preglednica 1). Lipofilne učinkovine imajo običajno večji Vd, v večji meri se vežejo na plazemske beljakovine in se pogosteje presnavljajo v jetrih. Hidrofilne učinkovine imajo manjši Vd, manj se vežejo na plazemske proteine in se praviloma izločajo nespremenjene skozi ledvice (2). Na FK hidrofilnih učinkovin zato zelo vplivajo tista stanja in bolezni, ki spremenijo delež telesne vode, npr. dehidracija, hipervolemija, edemi, izgube v tretji prostor, ker se ob teh stanjih učinkovinam bistveno spremeni Vd. Eliminacija teh učinkovin je odvisna od ledvične funkcije, kar zasledimo v primeru ledvične okvare ali v stanju povečanega ledvičnega očistka (Augmented Renal Clearance - ARC) (2, 3, 4). Lipofilnim učinkovinam se ob spremembah v telesni vodi Vd manj spremeni, toliko bolj pa nanj vpliva povečan delež maščobnega tkiva pri debelosti.

Razdelitev učinkovin na relativno hidrofilne ali lipofilne je le približen napovednik njihovih FK lastnosti, nudi pa osnovo za strategijo prilagajanja odmerkov (3).

### 1.2 FARMAKODINAMIKA (FD) PROTIMIKROBNIH UČINKOVIN

Farmakodinamika opisuje razmerje med koncentracijo učinkovine in učinkom na izbrani patogen. Nekatere pro-

timikrobne učinkovine delujejo bakteriostatično na način, da inhibirajo bakterijsko rast in razmnoževanje, druge, baktericidne, pa povzročijo smrt bakterijske celice. Nekatere učinkovine izkazujejo oba načina delovanja: v nižjih koncentracijah delujejo bakteriostatično, v višjih bakteri- cidno (1).

Protimikrobna učinkovitost posamezne učinkovine je odvisna od številnih dejavnikov, med drugim od razmerja med doseženo koncentracijo na mestu okužbe in minimalno inhibitorno koncentracijo patogena (MIK). Ker spremembe v farmakokinetiki učinkovine vplivajo na njeno koncentracijo in posledično na razmerje C<sub>max</sub>/MIK, vplivajo tako na učinkovitost zdravljenja kot tudi na terapevtske izide. Z ustreznimi strategijami prilagajanja odmerkov lahko optimiziramo omenjeno razmerje in s tem pozitivno vplivamo na hiter kliničen odgovor, hkrati pa zmanjšamo ali preprečimo razvoj odpornosti pri patogenu.

### 1.3 FARMAKOKINETIČNI/ FARMAKODINAMIČNI INDEKSI UČINKOVITOSTI

Glede na razmerje med koncentracijo in odgovorom delimo protimikrobne učinkovine na časovno in na koncentracijsko odvisne (slika 1).

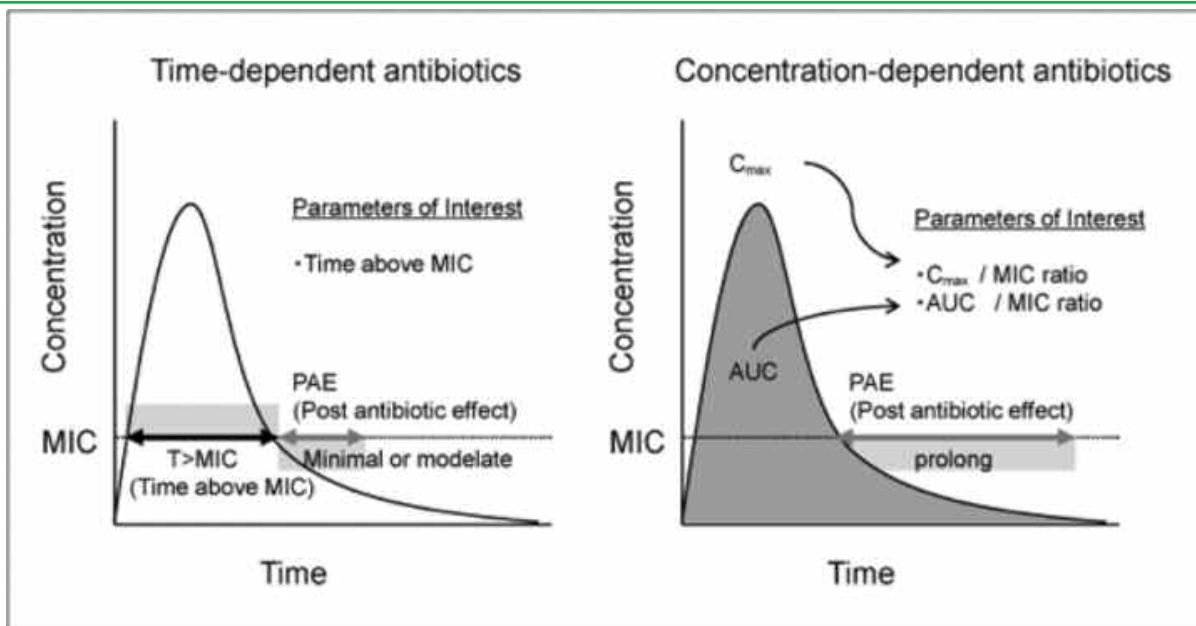
Takšna razdelitev je precej poenostavljena, saj je na podlagi različnih in vitro ter in vivo študij ugotovljeno, da imajo učinkovine pogosto več kot en kriterij učinkovitosti.

*Preglednica 1: FK lastnosti nekaterih najpomembnejših protimikrobnih zdravil (2).*

*Table 1: Pharmacokinetic properties of some important antimicrobial agents (2).*

	HIDROFILNE	LIPOFILNE
<b>UČINKOVINE</b>	penicilini, cefalosporini, karbapenemi, monobaktami, fluorokinoloni*, aminoglikozidi, vankomicin, daptomicin, linezolid, kolistin, flukonazol, aciklovir	fluorokinoloni*, makrolidi, klindamicin, tigeciklin, rifampicin, vorikonazol, posakonazol, itraconazol, amfotericin B
<b>FK lastnosti</b>	Vd < 0,8 L/kg	Vd > 0,8 L/kg
	Porazdelitev v telesno vodo, slaba intracelularna penetracija	Dobra intracelularna penetracija, porazdelitev v maščobno tkivo
	Ledvična eliminacija nespremenjene učinkovine	Primarna eliminacija z metabolizmom v jetrih, ledvična eliminacija presnovkov

\*fluorokinoloni imajo lastnosti tako hidrofilnih kot lipofilnih spojin



Slika 1: Časovno in koncentracijsko odvisno delovanje (5).

Figure 1: Time dependent and concentration dependent mode of action (5).

### 2.3.1 POANTIBIOTIČNI UČINEK - PAU

Poantibiotični učinek je definiran kot čas podaljšane supresije bakterijske rasti in vitro po enkratni izpostavljenosti antibiotiku. Ta čas je odvisen od učinkovine in patogena, pa tudi od koncentracije učinkovine, časa izpostavljenosti, velikosti bakterijske populacije in njene faze rasti, od gojišča in pH (1).

Mehanizem PAU ni popolnoma razjasnjen, pripisuje se pa neusodni poškodbi bakterije in posledični motnji v sintezi beljakovin in nukleinskih kislin (1). Učinkovine, ki delujejo ne te faze bakterijske replikacije, izkazujejo večji PAE, npr. aminoglikozidi in fluorokinoloni.

### 2.3.2 ČASOVNO ODVISNO DELOVANJE

Za učinkovine s časovno odvisnim delovanjem je značilno, da je njihov protimikrobni učinek opredeljen kot kumulativni odstotek časa znotraj 24-urnega intervala, ko je koncentracija nevezane učinkovine nad MIK ( $f T > \text{MIK}$ ). Učinek je optimalen, ko je ta delež 90-100%, medtem ko koncentracije visoko nad MIK (4-6- kratnik MIK) ne prispevajo k boljši protimikrobni učinkovitosti. Te učinkovine imajo zanemarljiv ali zelo majhen poantibiotični učinek. Nekaj PAU izkazuje imipenem (1).

V skupino časovno odvisnih protimikrobnih zdravil prištevamo betalaktamske antibiotike (peniciline, cefalosporine, monobaktame in karbapeneme), pa tudi glikopeptide in linezolid, čeprav je pri slednjih pomemben napovednik

učinkovitosti tudi razmerje med celokupno izpostavljenostjo, ki jo opredelimo kot AUC v 24-ih urah ( $\text{AUC}_{0-24}$ ), in MIK, torej izkazujejo t. i. »mešani« tip delovanja (preglednica 2).

Preglednica 2: Časovno odvisni antibiotiki (2).

Table 2: Time dependent antibiotics (2).

PROTIMIKROBNO ZDRAVILO	FK/FD INDEKS UČINKOVITOSTI
penicilini	50% $fT > \text{MIK}$
cefalosporini	60%-70% $fT > \text{MIK}$
monobaktami	60%-70% $fT > \text{MIK}$
karbapenemi	40% $fT > \text{MIK}$
vankomicin	$\text{AUC}_{0-24}/\text{MIK} \geq (350-400)$ , TDM: $C_{\min} 15-20 \text{ mg/L}$ za hude okužbe
linezolid	$>85\% fT > \text{MIK}$ , $\text{AUC}_{0-24}/\text{MIK} > 85$

### 2.3.3 KONCENTRACIJSKO ODVISNO DELOVANJE

Pri koncentracijsko odvisnih učinkovinah se hitrost in obseg baktericidnega delovanja in vitro povečujeta, ko se povečuje razmerje med  $C_{\max}$  in MIK (1, 2, 3). Značilni pred-

stavniki te skupine zdravil so aminoglikozidi, pri katerih znaša optimalno razmerja  $C_{max}/MIK$  vsaj 8-10, ter fluorokinoloni, pri katerih naj bo  $C_{max}/MIK$  najmanj 10-12. Dodatni napovednik učinkovitosti je v tej skupini tudi razmerje med  $AUC_{24}/MIK$  (preglednica 3). Tako aminoglikozidi kot fluorokinoloni imajo dobro izražen poantibiotski učinek, ki znaša 2-6 ur (1). Prav na podlagi ugotovitev iz študij indeksov učinkovitosti se je pri aminoglikozidih uveljavilo odmerjanje s podaljšanim odmernim intervalom, ki zagotavlja visoke  $C_{max}$  za dobro učinkovitosti in čim nižje  $C_{min}$  za izboljšano varnost zdravljenja.

*Preglednica 3: Koncentracijsko odvisne protimikrobne učinkovine (2).*

*Table 3: Concentration dependent antimicrobials (2).*

UČINKOVINE	FK/FD INDEKS UČINKOVITOSTI
aminoglikozidi	$C_{max}/MIK > 8-10$ , $AUC_{0-24}/MIK$ 80-125
fluorokinoloni	$C_{max}/MIK > 10-12$ , $AUC_{0-24}/MIK$ 125-250 (G-), $AUC_{0-24}/MIK$ 30-50 (Strep. p.)
daptomicin	$C_{max}/MIK$ (območje ni definirano)
tigeciklin	$fAUC_{0-24}/MIK > 0,9$
kolistin	$AUC_{0-24}/MIK > 60$
metronidazol	$AUC_{0-24}/MIK > 70$
flukonazol	$fAUC_{0-24}/MIK > 25$ ali $D$ (mg)/ $MIK > 50$
itrakonazol	$fAUC_{0-24}/MIK > 25$ , TDM: $C_{min} > 1,0 \mu g/mL$
vorikonazol	$fAUC_{0-24}/MIK > 25$ ; TDM: $C_{min} 2 \mu g-5,5 \mu g/mL$
posakonazol	$fAUC_{0-24}/MIK > 25$
ehinokandini	$fAUC_{0-24}/MIK > 10$ (za <i>Candida</i> in <i>Aspergillus</i> spp.)
amfotericin B deoksiholat	$fAUC_{0-24}/MIK > 10$

## 3 PRILAGAJANJE ODMERKOV GLEDE NA TELESNOMASO (TM)

Informacije za odmerjanje pri bolnikih s preveliko ali zelo majhno telesno maso so skope ali jih sploh ni, zlasti jih pogrešamo v navodilih proizvajalcev. Kadar je priporočeni od-

merek podan v številu enot/kg, ni vedno nedvoumno pojasnjeno, katero telesno maso bolnika je potrebno uporabiti za optimalen odmerek (6, 7). Preglednica 4 predstavlja, na kakšne načine lahko interpretiramo bolnikovo telesno maso.

*Preglednica 4: Različni deskriptorji telesne mase (TM).*

*Table 4: Different descriptors of body weight (BW).*

DESKRIPTOR	KAKO IZMERIMO, IZRAČUNAMO
DEJANSKA TM (TOTAL BW, ACTUAL BW)	Masa bolnika na tehtnici
INDEKS TM-ITM (BODY MASS INDEX-BMI)	$\frac{\text{dejanska TM (kg)}}{[TV (m)]^2}$
IDEALNA TM (IDEAL BODY WEIGHT-IBW)	$45,4 + [0,89 \times (\text{telesna višina (cm)} - 1,52)] (+4,5 \text{ za moške})$
MAKSIMALNA TM (MAXIMUM BW)	Idealna TM $\times 1,2$
PUSTA TM (LEAN BODY WEIGHT-LBW)	Moški: $(9270 \times \text{dejanska TM [kg]})$ $[6680 + (216 \times \text{indeks TM})]$ Ženske: $(9270 \times \text{dejanska TM [kg]})$ $[8780 + (244 \times \text{indeks TM})]$
PRILAGOJENA TM (ADJUSTED BODY WEIGHT-AdjBW)	Idealna TM + $(0,4 \times [\text{dejanska TM} - \text{idealna TM}])$

TM = telesna masa, TV = telesna višina

### 3.1 ODMERJANJE PRI PREVELIKI TELESNI MASI

Debelost je definirana kot 20% presežek idealne telesne mase, ali kot indeks telesne mase, ki presega 30 (8).

Izrečnih navodil za odmerjanje pri prekomerni telesni masi v SmPC-jih ne najdemo (7). Debelost pomembno vpliva na različne FK parametre: zaradi povečane količine maščobnega tkiva je  $V_d$  lipofilnih učinkovin povečan, medtem ko je vpliv na  $V_d$  hidrofilnih učinkovin manjši, vendar ne zanemarljiv (6, 8). Glomerulna filtracija je pri debelih osebah povečana v primerjavi s tistimi z normalno maso, kar bi lahko povezovali s povečanim očistkom učinkovin, ki se izločajo skozi ledvice (6, 9, 10). Po drugi strani debelost poveča verjetnost za kronične bolezni in druge zaplete, zato avtorji odsvetujejo poenostavljene interpretacije. Za

izračun ocene ledvične funkcije pri teh bolnikih namesto idealne TM uporabimo prilagojeno TM (6).

Le redka protimikrobna zdravila imajo jasna navodila, da se odmerjajo glede na dejansko TM, med njimi vankomicin. Nekateri študije kažejo, da kljub navodilom pretežki bolniki ne dobivajo ustreznih odmerkov, verjetno iz strahu pred ledvično okvaro, in so zato praviloma zdravljeni s subterapevtskimi odmerki (10, 11).

Betalaktamski antibiotiki delujejo časovno odvisno, zato lahko vsakršno povečanje Vd vpliva na njihov indeks učinkovitosti. Kljub temu je na voljo izrazito malo uporabnih podatkov o morebitnih odmernih strategijah pri debelih, študij je malo in vključujejo majhno število bolnikov. Izjema so le posamezni podatki o povečanem odmerku cefazolina v kirurški profilaksi (2g namesto 1g), z možnostjo ponovitve vsake 3 ure, dokler traja poseg (8). Cefepim bi lahko ekstremno debeli prejeli v odmerku 2g/8h (8). Piperacilin / tazobaktam je bil uporabljen v odmerku 6,75g/8 h v podaljšanem štiriurni infuziji (8).

Kljub pomanjkljivim podatkom o priporočenih odmerkih je v literaturi zaslediti splošno usmeritev, da je pri zdravljenju z betalaktami zaradi sorazmerno dobrega varnostnega profila in širokega terapevtskega okna pri bolnikih s prekomerno telesno maso potrebno uporabiti dovolj velik polnilni odmerek, za vzdrževalne odmerke izbrati tiste z zgornje

priporočene meje, pri parenteralni aplikaciji pa podaljšati infuzijski čas (6).

Odmerki aminoglikozidov se določajo na podlagi prilagojene TM s 40% korekcijskim faktorjem. Pri ekstremno veliki telesni masi je tako izračunani odmerek lahko zelo velik, kar utegne privedi do omejevanja odmerka zaradi strahu pred toksičnostjo. Najboljši pristop je terapevtsko spremljanje koncentracij in prilagajanje odmerkov (Therapeutic Drug Monitoring – TDM).

### 3.2 ODMERJANJE PRI EKSTREMNO NIZKI TELESNI MASI

Svetovna zdravstvena organizacija definira premajhno telesno maso kot ITM < 18,5. Ta definicija se zdi v praksi preveč poenostavljena, saj nizek ITM sam po sebi še ne pomeni majne absolutne mase. Priporočil za odmerjanje pri osebah z nizko telesno maso v SmPC-jih ni, razen kadar je splošno navodilo za izračun odmerka izraženo na kilogram TM. Praviloma se ravnamo tako, da izberemo manjše priporočene odmerke. Pri bolniku moramo pozorno spremljamo morebitne neželene oz. toksične učinke zaradi prevelikega odmerjanja (2, 9).

Posebna previdnost je potrebna pri bolnikih s kaheksijo. Kaheksija je sindrom, pri katerem zaradi kroničnega vnetja pod vplivom citokinov in stresnih hormonov propadajo

*Preglednica 5: Odmerjanje protimikrobnih zdravil pri bolnikih s preveliko telesno maso (6).*

*Table 5: Antimicrobial drug-dosing in overweight patients(6).*

UČINKOVINE	ODMERJANJE OB h TM
betalaktami	h Vd, i AUC. Jasnih priporočil ni. Kritično bolni? TDM?
aminoglikozidi	Za izračun odmerka: prilagojena TM. Spremljati koncentracije, TDM!
vankomicin	Za izračun odmerka: dejanska TM, zlasti polnilni odmerek. TDM!
fluorokinoloni	Ni priporočil za povečanje odmerkov
linezolid, makrolidi, tetraciklini	Ni priporočil za povečanje odmerkov, odmerjanje na podlagi idealne TM
kolistin	Na podlagi idealne TM
klindamicin	Na podlagi dejanske TM ali v zgornjem delu priporočenih odmerkov
SMX/TMP	Ni posebnih priporočil, nekateri viri na podlagi prilagojene TM
tuberkulostatiki	Na podlagi idealne TM
azoli	Flukonazol: višji odmerki. Vorikonazol: prilagojena ali idealna TM
ehinokandini	Običajno odmerjanje, izjemoma h pri kritično bolnih ali hhhTM
amfotericin B (vsi)	Polnilni odmerek na podlagi dejanske TM, vzdrževalni po idealni
aciklovir	Na podlagi idealne TM
oseltamivir	Običajno odmerjanje

mišice in maščobno tkivo, kar vodi v hudo telesno shiranost. Bolniku peša telesna zmogljivost, organi odpo-vedujejo, v telesu se nabira voda. Zaradi edemov in izgube mišične mase je spremenjen volumen distribucije, zaradi hipoalbuminemije je zmanjšana vezava na proteine, zaradi katabolizma pa je prizadet tudi metabolizem učinkovin (2). Priporočeno je previdno odmerjanje in monitoring zdravljenja, zlasti za potencialno toksične učinkovine.

## 4 PRILAGAJANJE ODMERKOV GLEDE NA LEDVIČNO FUNKCIJO

Priporočila za prilagajanje odmerkov protimikrobnih zdravil na podlagi zmanjšane ledvične funkcije so dobro dokumentirana in podprta z literaturo. Tovrstno prilagajanje je v vsakodnevni klinični praksi tudi najpogostejše.

V vsakodnevni praksi kot prvi vir uporabimo SmPC, kjer najdemo informacije, ali je odmerjanje potrebno prilagoditi in kako (7). Pri nekaterih zdravilih SmPC-ji še niso usklajeni z novejšimi priporočili, zato uporabljamo različne bolnišnične protokole, domače in mednarodne smernice ter priročnike za odmerjanje ali drugo literaturo (12, 16, 17).

### 4.1 DOLOČITEV LEDVIČNE FUNKCIJE

V vsakodnevni praksi se ledvična funkcija določa na osnovi serumskega kreatinina. Večina laboratorijev sočasno s tem rezultatom poda tudi oceno glomerulne filtracije (oGF), ki je podana v mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, torej na povprečno telesno površino. Za izračun oGF se uporabljata formuli MDRD in CKD-EPI, tako dobljeni rezultati pa niso namenjeni prilagajanju odmerkov zdravil, temveč določitvi stopnje kronične ledvične bolezni (13, 14).

Večina SmPC in drugih virov vsebuje priporočilo za odmerjanje na podlagi kreatininskega očistka (Creatinine Clearance – CrCl), izračunanega s pomočjo Cockroft-Gaultove enačbe. Ta upošteva razen starosti, spola, in serumskega kreatinina (S-krea) še telesno maso.

Cockroft-Gaultova enačba (13):

$$CrCl = F \times \frac{140 - \text{starost} \times TM(\text{kg})}{Skrea \left( \frac{\mu\text{mol}}{L} \right)}$$

pri čemer je F za moške 1,23 in za ženske 1,04.

Za oceno ledvične funkcije tudi ta enačba ni idealna, uporabnost ji daje dejstvo, da je uporabljena kot osnova za odmerjanje v večini registracijskih študij. Kreatininski očistek najhitreje izračunamo s pomočjo kalkulatorjev (15). Le-ti nam nudijo tudi izračune glede na različne telesne mase (idealno, prilagojeno, dejansko), kar je uporabno zlasti pri bolnikih s prekomerno telesno maso.

Opozoriti pa je potrebno, da ima serumski kreatinin kot označevalec ledvične funkcije številne pomanjkljivosti. Kreatinin je mišični razgradni produkt, zato na njegovo koncentracijo vplivajo mišična masa, spol, telesna aktivnost oz. neaktivnost, prehrana, itd. Nizke vrednosti serumskega kreatinina nas zlasti pri starejših ljudeh rade zavedejo, ker jih dojemamo kot pokazatelj dobre oz. normalne ledvične funkcije, so pa le posledica sarkopenije in nepomičnosti.

Hitro spreminjaje koncentracije serumskega kreatinina je znak za nestabilno ledvično funkcijo, in v tem primeru ocena ledvične funkcije s pomočjo formul ni mogoča.

### 4.2 PRILAGAJANJE ODMERKOV PRI ZMANJŠANI LEDVIČNI FUNKCIJI

Pri zdravilih, ki se sama ali njihovi metaboliti izločajo skozi ledvice, je potrebno pri slabšanju ledvične funkcije odmerke prilagoditi. V nasprotnem primeru se učinkovine kumulirajo ter povzročajo neželene učinke, nekatere pa še dodatno prispevajo k poslabšanju ledvične okvare, npr. aminoglikozidi, vankomicin, amfotericin B. Če je le mogoče, naštetih nefrotoksičnih zdravil med seboj ne kombiniramo.

Kakor že omenjeno, oGF ni namenjena prilagajanju odmerkov. Pogojno jo lahko uporabimo pri aktivnih bolnikih z normalno telesno konstitucijo in pri zdravilih, ki imajo široko terapevtsko okno. Kadar pa imamo bolnika z ekstremitetami v telesni višini in/ali telesni masi, z indeksom telesne mase manjšim od 18,5 ali večjim od 30, starostnika, ali pa ima bolnik predpisano potencialno toksično zdravilo, je potrebno za oceno ledvične funkcije izračunati očistek kreatinina po Cockroft-Gaultovi enačbi. To enačbo je potrebno vedno uporabiti pri zdravljenju z vankomicinom, aminoglikozidi, foskarnetu, ganciklovirju in valganciklovirju (16).

Vsa priporočila so si enotna, da je za prilagajanje odmerkov aminoglikozidov in vankomicina potrebno spremljanje plazemskih koncentracij (1, 2, 3, 12, 16, 17). To priporočata tudi SmPC za vankomicin in gentamicin, čeprav navajata zastarele podatke o priporočenih plazemskih koncentracijah (7).

Ker so zdravila, pri katerih prilagoditev odmerka ob ledvični okvari ni potrebna, izredno redka, jih navajamo v preglednici 6.

Preglednica 6: Zdravila, ki ne potrebujejo prilagoditve odmerjanja pri zmanjšani ledvični funkciji (8).

Table 6: No dosage adjustment with renal insufficiency (8).

ANTIBIOTIKI		SISTEMSKE PROTIGLIVNE UČINKOVINE	TUBERKULOSTATIKI
azitromicin	moksifloksacin	anidulafungin	izoniazid
ceftriakson	polimiksin B	kaspofungin	rifampicin
kloramfenikol	pirimetamin	ittrakonazol susp.	rifabutin
ciprofloksacin xl	rifaksimim	mikafungin	
klindamicin	tedizolid	posakonazol per os	
doksiciklin	tigeciklin	vorikonazol per os	
linezolid			

## 5 PRILAGAJANJE ODMERKOV GLEDE NA JETRNO FUNKCIJO

Jetrna okvara, zlasti kronična s pridruženo cirozo, lahko neposredno ali posredno vpliva na FK in FD protimikrobnih zdravil. Enoznačnega označevalca za jetrno okvaro ni, zato se za oceno okvare uporablja Child-Pugh-Turcottov točkovnik (preglednica 7).

Preglednica 7: Child-Pugh-Turcottov točkovnik (13).

Table 7: Child-Pugh-Turcotte Score (13).

	1 točka	2 točki	3 točke
Bilirubin (µmol/L)	< 34,2	34,2 – 51,3	>51,3
Albumin (g/L)	>35	28-35	<28
INR	<1,7	1,7-2,2	<2,2
ascites	ne	Blag, odziven na diuretike	neodziven
encefalopatija	ne	Stopnja 1-2	Stopnja 3-4

Rezultat: do 6 točk stopnja A  
7-9 točk stopnja B  
10-15 točk stopnja C

Zaradi slabšega pretoka skozi jetra je zmanjšan učinek prvega prehoda, posledično se poveča biološka uporabnost učinkovine in plazemska koncentracija (18, 19). Ta pojav je še bolj izražen pri portosistemskih obvodih. Zaradi prizadete sinteze albuminov imajo učinkovine manj vezavnih mest, zato se poveča delež proste učinkovine in s tem njen učinek. Ascites in edemi, povezani s cirozo, povečajo Vd hidrofilnih učinkovin. Zaradi prizadete metabolne aktivnosti citokromov je zmanjšan očistek učinkovin, ki potrebujejo za eliminacijo predhodno presnovo. Ta učinek se klinično izrazi šele, ko je metabolna aktivnost jeter prizadeta za več kot 90% (19). Zmanjšana rezerva glutationa onemogoča konjugacijo toksičnih metabolitov in s tem njihovo eliminacijo. Prizadeto je tudi izločanje učinkovin z žolčem. Obsežna jetrna okvara lahko generira ledvično okvaro, t.i. hepatorenalni sindrom, zato se zmanjša tudi eliminacija zdravil, ki se v jetrih ne presnavljajo in se izločajo izključno skozi ledvice (18, 19, 20).

Preglednica 8: Zdravila, ki potrebujejo prilagoditev odmerkov pri jetrni okvari (8).

Table 8: Antimicrobials which need dose adjustment in hepatic disease (8).

ANTIBIOTIKI		SISTEMSKA PROTIGLIVNA ZDRAVILA
ceftriakson	izoniazid	kaspofungin
kloramfenikol	metronidazol	ittrakonazol
klindamicin	rifampicin	vorikonazol
fusidna kislina	tigeciklin	

Za odmerjanje zdravil pri akutni jetrni okvari specifičnih navodil ni. Za oceno obsega okvare se iz praktičnih razlogov uporablja Child-Pugh-Turcottov točkovnik, čeprav pri teh bolnikih ni bil validiran (20).

## 6 PRILAGAJENJE ODMERKOV PRI KRITIČNO BOLNIH

Farmakokinetika protimikrobnih zdravil je pri življenjsko ogroženih bolnikih spremenjena na vseh stopnjah ADME procesa.

### 6.1 ABSORPCIJA

Na absorpcija peroralno zaužitih vplivajo naslednji dejavniki: povečan pH želodca zaradi uporabe zaviralcev protonske črpalke, hipoperfuzija prebavil zaradi šokovnega stanja ali uporabe vazoaktivnih substanc, zmanjšana motiliteta zaradi uporabe opiatov.

Peroralna uporaba protimikrobnih zdravil je zato pri teh bolnikih neprimerna; če pa jo v izjemnih primerih moramo uporabiti, se moramo zavedati naštetih omejitev.

### 6.2 DISTRIBUCIJA

Volumen distribucije hidrofilnih učinkovin je pri kritično bolnih praviloma zelo povečan. Prvi razlog je velika volumnska obremenitev s parenteralnimi raztopinami. Sistemski vnetni odgovor pri septičnem stanju povzroča iztekanje plazme iz kapilar v intersticij (t.i. kapilarni »leak«, »puščanje« kapilar), zato nastajajo edemi, ki prav tako povečujejo Vd. Izgube v tretji prostor kot posledica napredovale jetrne ciroze, pleuralnega izliva, pa tudi obsežne opekline, kirurški dreni, izventelesni krvni obtok in druge terapevtske intervencije prav tako povečajo Vd hidrofilnih učinkovin (3). Za časovno odvisne antibiotike literaturni viri zato priporočajo dovolj velik polnilni odmerek (2, 3, 4). Enako velja za hidrofilne koncentracijsko odvisne učinkovine. Polnilnega odmerka ni potrebno prilagajati ledvični funkciji. Bistvenih sprememb v Vd lipofilnih učinkovin pri kritično bolnih, z izjemo predebelih bolnikov, ne pričakujemo (2).

Pri kritično bolnih je pogosta hipoalbuminemija. Tiste hidrofilne učinkovine, ki se sicer v veliki meri vežejo na albumine, imajo povečan delež proste frakcije. Ker je prosta učinkovina izpostavljena metabolizmu in eliminaciji, je lahko učinek teh zdravil v stanjih resne hipoalbuminemije bistveno zmanjšan. Literatura navaja podatke za ceftriakson, flukloksacilin ter ertapenem; zlasti slednjega je potrebno v takih stanjih odmerjati pogosteje in v večji količini (2).

### 6.3 POVEČAN LEDVIČNI OČISTEK (AUGMENTED RENAL CLEARANCE – ARC)

ARC označuje pospešeno izločanje metabolitov, toksinov in tudi zdravil, in je posledica glomerulne hiperfiltracije ( $CrCl > 130$  mL/min) (2). Vzrok bi naj bil SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrom – sindrom sistemskega vnetnega odgovora), ki povzroča zmanjšanje sistemskega žilnega upora in povečanje minutnega volumna srca (3). ARC pogosto zasledimo v povezavi s sepsa, poškodbami, velikimi opeklinami, pankreatitisom, avtoimunskimi boleznimi, ishemijo in velikimi operacijami. To so stanja, ki so povezana s povečanjem Vd hidrofilnih učinkovin, kar ob glomerulni hiperfiltraciji pomeni, da bo delovanje časovno odvisnih antibiotikov, npr. betalaktamov, potencialno neučinkovito. Zaradi povečanega Vd in ob pospešeni eliminaciji z običajnimi odmernimi shemami ni mogoče zagotoviti zahtevanega indeksa učinkovitosti ( $fT > MİK$ ). Na začetku zdravljenja so izredno pomembni dovolj veliki polnilni odmerki, v nadaljevanju pa vsi ukrepi, ki podaljšajo čas koncentracije nad MİK: večji posamezni odmerki, podaljšan čas infundiranja in krajši odmerni interval.

V klinični praksi se zato uveljavlja aplikacija betalaktamov v podaljšani (kontinuirani) infuziji, ki zagotavlja konstantno dovolj visoko koncentracijo znotraj celega odmernega intervala (2, 3, 8, 21). Pogoji za tak način odmerjanja je ustrezna stabilnost učinkovine v infuzijski raztopini. V priporočilih je največ podatkov za ta način odmerjanja za cefepim, ceftazidim, meropenem in piperacilin s tazobaktamom (8, 21).

Podobno kot za betalaktame velja tudi za vankomicin, ki izkazuje mešani tip delovanja. AUC je obratno sorazmerna očistku, zato ARC pomembno vpliva na učinkovitost delovanja vankomicina. S standardnim odmerjanjem pri kritično bolnih z ARC so terapevtski izidi dokazano slabi (3). Zaradi ozkega terapevtskega okna je ob agresivnih odmernih shemah potrebno dosledno spremljanje koncentracij s TDM podporo (3). Tudi fluorokinoloni ob neprilagojenem odmerjanju ob ARC ne dosegajo ciljnih plazemskih koncentracij. Na učinkovitost koncentracijsko odvisnih antibiotikov, npr. aminoglikozidov, ima ARC nekoliko manjši vpliv, ker je pri njih  $C_{max}/MİK$  najpomembnejši indeks učinkovitosti,  $C_{max}$  pa je odvisna od Vd in ne od očistka. Tudi pri teh zdravilih je priporočljivo povečati polnilni odmerek, kadar je pri bolniku sočasno povečan Vd (3). Učinkovitost in varnost zdravljenja je potrebno spremljati z merjenjem plazemskih koncentracij in po potrebi prilagajati s pomočjo TDM.



## 6.4 ZMANJŠAN LEDVIČNI OČISTEK

Akutna ledvična okvara (ALO) je pogost zaplet pri kritično bolnih, zlasti v sklopu sepse. Vzrokov je več, najpogostejši sprožilec je šok. Ob ALO je prizadeto izločanje hidrofilnih učinkovin, zato je potrebno odmerjanje prilagoditi stopnji in obsegu okvare. Način prilagajanja je odvisen od načina delovanja posameznih učinkovin. Pri koncentracijsko odvisnih, npr. pri aminoglikozidih in daptomicinu, praviloma podaljšujemo odmerni interval, velikosti odmerka pa ne spreminjamo, zato da ohranimo razmerja med  $C_{max}/MIK$  (2, 3). Nasprotno pa pri časovno odvisnih učinkovinah zmanjšamo odmerke in ohranimo dolžino odmernega intervala, da ohranimo razmerje  $t > MIK$  (2, 3).

ALO in okrevanje po ALO zaznamujejo obdobja hitrega spreminjanja glomerulne filtracije, kar dodatno zaplete situacijo. Prilagajanje odmerjanja pri kritično bolnih z ALO je zahtevno, saj je kljub potrebni previdnosti zaradi zmanjšane očistka potrebno predvsem zagotoviti uspešnost zdravljenja okužbe. Pri učinkovinah z veliko terapevtsko širino je lahko prilagajanje odmerkov manj rigorozno, medtem ko je pri toksičnih priporočena večja previdnost in če je mogoče, terapevtsko spremljanje koncentracij (1, 2, 3). Dobre prakse sistematičnega individualiziranega zdravljenja z uporabo TDM se v zadnjem obdobju uveljavljajo tudi v slovenskem prostoru (22, 23). V vsakem primeru je najboljša rešitev individualno načrtovanje odmerjanja ob sodelovanju celotnega zdravstvenega tima.

## 7 SKLEP

V vsakodnevni praksi pogosto pogrešamo nadrobnejše napotke za optimalno odmerjanje v posebnih primerih. Poznavanje farmakokinetike in farmakodinamike protimikrobnih zdravil je ključno za izdelavo strategije in optimizacijo zdravljenja pri vsakem posameznem bolniku.

## 8 VIRI

1. Pai MP, Contrell ML, Kashuba ADM, Bertino JS. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Anti-infective Agents. In: Dolin R, Blaser MJ, Bennet JE. Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases, 8th Edition.. Saunders,; 2014: 252-262.e2.
2. DN, Fish. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations for Antimicrobial Use in Critically Ill Patients. In: Erstad B. Critical Care Pharmacotherapy. ACCP; 2016: 252-282.
3. Blot SI, Pea F, Lipman J. The effect of pathophysiology on Pharmacokinetics in the critically ill patient – Concepts appraised by the example of antimicrobial agents. *Advanced Drug Delivery Reviews* 77; 2014: 3-11.
4. McKenzie C. Antibiotic dosing in critical illness. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66 suppl 2: ii25-ii31
5. Sako K, Haniu H, Hasegawa M, et al. The Application of Proteomics to PK-PD Modelling and Simulation. *J Bioequiv Availab.* 2011: 10.4172/jpp.S2-002.
6. Flannery AH, Cook AM, Martin CA. Antimicrobial Dosing in Obesity. In: Zimmerman DE, Shank BR. Demystifying drug dosing in obese patients. American Society of Health-System Pharmacists, Inc.; 2016.: 31 -65.
7. <http://www.cbz.si/>
8. Gilbert DN, Chambers H, Eliopoulos G, et al. The Sanford guide to antimicrobial therapy 2015. *Antimicrobial therapy* 45 Ed 2015.
9. Sareen A, Hill A, Clarkson A. Guide for Antimicrobial Drug Dosing in Extremes of Body Weight. Nottingham University Hospitals, NHS Trust, januar 2016. [http://www.nuh.nhs.uk/handlers/downloads.ashx?id\\_64237](http://www.nuh.nhs.uk/handlers/downloads.ashx?id_64237). Dostop: februar 2017.
10. Lawson W, Nathwani D, Eckmann C, et al. Weight-based antibiotic dosing in a real-world European study of complicated skin and soft-tissue infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 40-46.
11. Buehler KS, Yancey AM. Underdosing in obesity – an epidemic focus on antibiotics. *Formulary Watch*, 2013. <http://www.formularyjournal.modernmedicine.com/formulary-journal/contents/tags/antibiotics/underdosing-obesity-epidemic-focus-antibiotics>. Dostop: marec 2017.
12. Ashley C, Currie A. The Renal Drug Handbook (Third Edition), UK Renal Pharmacy Group. Radcliffe Publishing Oxford, New York; 2009.
13. <http://www.globalrph.com/medcalcs.htm>. Dostop: februar in marec 2017.
14. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999 Mar 16;130(6):461-70.
15. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med.* 2009 May 5;150(9):604-12.
16. Clarkson A, Hogg I, Fawcett N, et al. Guideline for antimicrobial dosing for adults in renal impairment. Nottingham University Hospitals, NHS Trust, June 2015, last update December 2016. <https://www.nuh.nhs.uk/handlers/downloads.ashx?id=60983>. Dostop marec 2017.
17. Stanford Hospital & Clinics Antimicrobial Dosing Reference Guide 2014. <http://med.stanford.edu/content/dam/sm/bugsanddrugs/documents/dosingprotocols/2014%20SHC%20ABX%20Dosing%20Guide.pdf>. Dostop: marec 2017.
18. Lewis JH, Stine JG. Review article: prescribing medications in patients with cirrhosis – a practical guide. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 37: 1132-1156.

19. Halilovic J, Heintz BH. Antibiotic dosing in cirrhosis. *Am J Health-Syst Pharm* 2014; 71: 1621-1634.
20. Fritschle Hilliard AC, Foster DR. Management and Drug Dosing in Acute Liver Failure. In: Erstad B. *Critical Care Pharmacotherapy*. s.l. : ACCP. 2016; 573-589.
21. Moehring R, Sarubbi C. Prolonged infusion of beta-lactam antibiotics. [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com). Dostop: februar 2017.
22. Mavsar-Najdenov B, Koder B, Grabnar I, Mrhar A. Analiza učinkovitosti in varnosti zdravljenja z vankomicinom. *Zdrav Vestn* 2007; 76: 659-700.
23. Cvikl M, Drofenik P, Mrhar A, Gorišek-Miksić N, Gorenjak M. Optimizacija režima odmerjanja vankomicina v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor. *Zdrav Vestn* 2011; 80: 909-16.

# UPORABA METILENSKEGA MODRILA V ZDRAVLJENJU SEPTIČNEGA ŠOKA

## THE USE OF METHYLENE BLUE IN THE TREATMENT OF SEPTIC SHOCK

AVTOR / AUTHOR:

asist. Katja Jerenec, dr. med.<sup>1</sup>

asist. Andrej Markota, dr. med.<sup>1</sup>

doc. dr. Polonca Ferk, mag. farm.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Univerzitetni klinični center Maribor  
Oddelek za intenzivno interno medicino  
Ljubljanska 5, 2000 Maribor

<sup>2</sup> Univerza v Mariboru, Medicinska fakulteta  
Taborska ulica 8, 2000 Maribor

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:  
polonca.ferk@guest.arnes.si

## 1 UVOD

Cirkulatorna odpoved in huda hipotenzija sta eni najpogostejših stanj v akutni medicini. O šoku govorimo, ka-

### POVZETEK

Smrtnost bolnikov zaradi septičnega šoka, ki zahteva velike odmerke vazokonstriktorjev, je v enotah intenzivne terapije kljub ukrepom še vedno velika. Ker klasično zdravljenje z nadomeščanjem tekočin, kateholaminskimi vazokonstriktorji in učinkovinami s pozitivnim inotropnim delovanjem v poznih fazah šoka pogosto ne zagotovi zadostne prekrvljenosti tarčnih tkiv, se je pojavila potreba po alternativnih metodah zdravljenja. Klinično priznana in pogosto uporabljena farmakoterapijska ukrepa sta aplikacija vazopresina in kortikosteroidov. V zadnjih letih pa na podlagi kliničnih primerov in posameznih kliničnih raziskav prihaja v ospredje tudi uporaba metilenskega modrila, ki deluje kot specifični inhibitor signalne poti dušikovega oksida in cikličnega gvanozin monofosfata (NO-cGMP), katere disfunkcija bi naj imela glavno vlogo v patogenezi distributivnega šoka.

### KLJUČNE BESEDE:

neadrenergični vazokonstriktorji, metilensko modrilo, refraktorni šok, septični šok

### ABSTRACT

Progressive hypotension in the setting of septic shock that acquires high doses of vasopressor therapy is still the main cause of mortality in intensive care units. Classical treatment with administration of fluid, catecholaminergic vasopressors and positive inotropes in the stage of refractory shock is usually insufficient in providing adequate tissue perfusion. Non-catecholaminergic vasopressor strategies were developed to improve the outcomes of refractory shock, among which the administration of vasopressin and glucocorticoids are commonly used in intensive care units. In recent years, methylene blue has emerged, based on clinical cases and some trials, as a selective inhibitor of nitric oxide – cyclic guanosine monophosphate (NO-cGMP) pathway, which is supposed to have a substantial role in the pathogenesis of distributive shock.

### KEY WORDS:

nonadrenergic vasopressors, methylene blue, refractory shock, septic shock



dar srednji arterijski tlak pade pod kritično mejo, pri kateri nastopi hipoperfuzija organov s tkivno hipoksijo, ki vodi v večorgansko odpoved in smrt (1). Kadar je vzrok cirkulatorne odpovedi izguba vazomotoričnega tonusa oz. zmanjšanje sistemske žilne upornosti, pogosto spremljane s povečanjem utripnega volumna srca, govorimo o distributivnem šoku (2). Distributivni šok najpogosteje nastopi zaradi sepse ali anafilaksije, pojavi se lahko tudi zaradi jemanja zdravil oz. ob izpostavitvi toksinom (pri zastrupitvi z dušikom, ogljikovim monoksidom, cianidom, metforminom, distributivno komponento ima tudi šok zaradi zastrupitve z zaviralci napetostno odvisnih kalcijevih kanalov tipa L) (3, 4). Septični šok je eden glavnih vzrokov smrti v enotah intenzivne terapije (2). Klasično zdravljenje šoka obsega mehanično ventilacijo, nadomeščanje tekočin in aplikacijo vazoaktivnih učinkovin (vazokonstriktorjev, učinkovin s pozitivnim inotropnim delovanjem) ter uporabo mehanske podpore krvnemu obtoku (uporaba intraaortne balonske črpalke in zunajtelesnega krvnega obtoka) (1). Z vnosom tekočin pogosto ne dosežemo zadostne perfuzije organov, zato je potrebna tudi aplikacija vazoaktivnih učinkovin. Najpogosteje uporabljamo kateholamine, predvsem noradrenalin (1, 2).

## 2 FIZIOLOŠKA IN PATOFIZIOLOŠKA VLOGA DUŠIKOVEGA OKSIDA V TELESU

Pomembno vlogo v regulaciji žilnega tonusa v fizioloških pogojih in v patofiziologiji šoka ima dušikov oksid (NO). V telesu nastaja iz L-arginina z encimom sintaza dušikovega oksida (NOS) in deluje kot močan vazodilatator. Obstajajo tri izooblike NOS: nevronska (nNOS), inducibilna (iNOS) in endotelijska (eNOS) (3, 5). Endotelijska NOS se nahaja v endotelnih celicah, trombocitih in kardiomiocitih. Ima pomembno vlogo v zaviranju agregacije in adhezije trombocitov ter agregacije levkocitov, kar preprečuje aterogenezo, njena glavna vloga pa je v uravnavanju krvnega tlaka (6). Aktivnost eNOS se močno veča z večanjem znotrajcelične koncentracije kalcija, posledica česar je zvečano nastajanje NO. Disfunkcija eNOS je lahko povezana s prevelikim nastajanjem NO, kar povzroča oksidativni stres in endotelno disfunkcijo (3, 6).

Inducibilna NOS se lahko izrazi v skoraj vsaki celici, inducirajo jo citokini, interlevkini in bakterijski lipopolisaharidi. Njena primarna fiziološka funkcija je kataliza nastanka NO v makrofagih, v katerih NO deluje kot glavna citotoksična

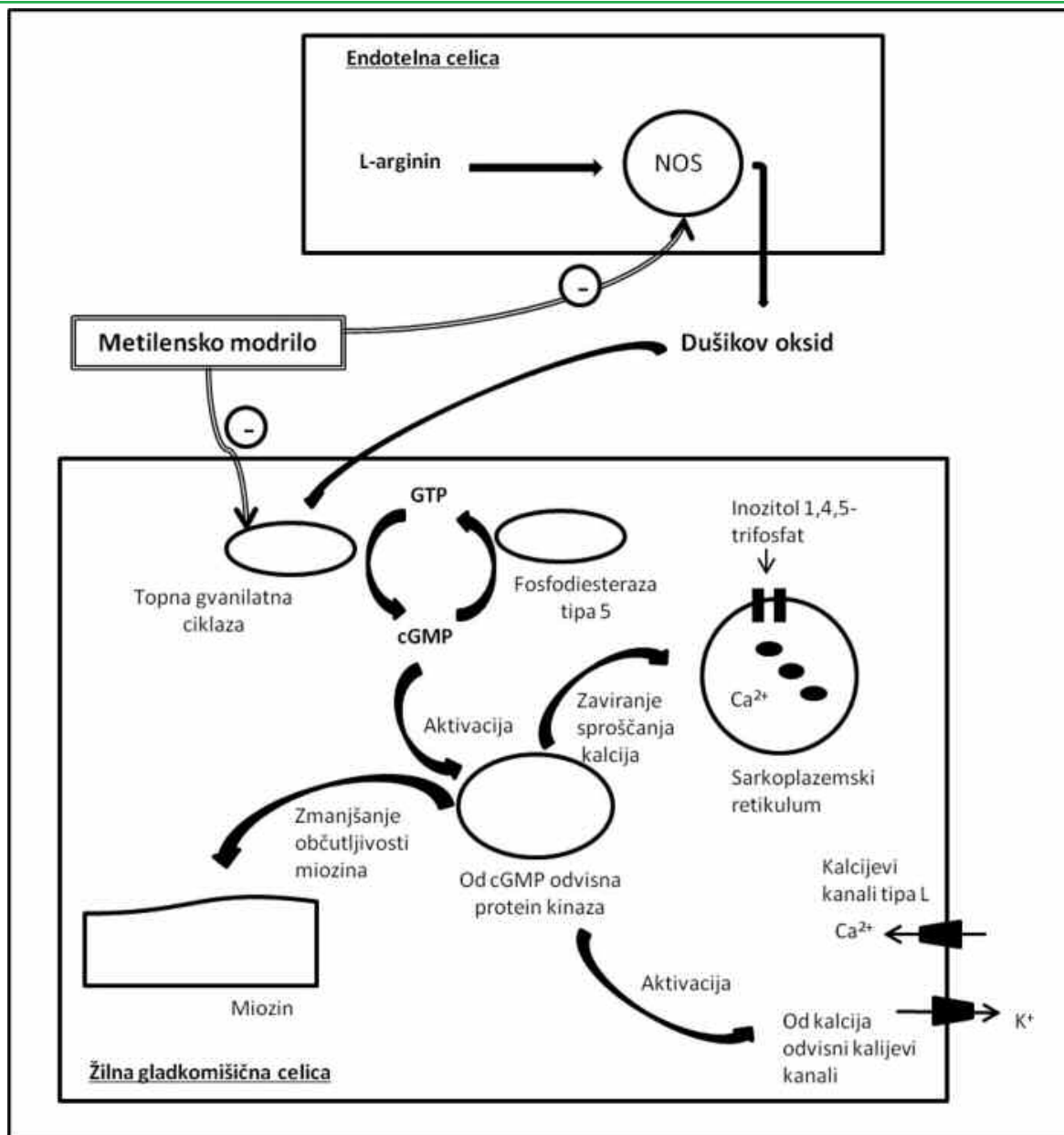
spojina ter ima pomembno vlogo v imunski obrambi ter posredovanju vnetja. NO deluje citotoksično tudi na številne tumorje, mikroorganizme in parazite (3, 7). Pomembna signalna pot NO je aktivacija topne gvanilatne ciklaze (sGC), kar vodi v nastajanje cikličnega gvanozinmonofosfata (cGMP), ki je sekundarni prenašalec za številne funkcije v telesu, vključno z uravnavanjem žilnega gladkomišičnega tonusa (8) (slika 1).

## 3 VAZODILATACIJSKI IN REFRAKTORNI ŠOK

K vazodilatacijskemu šoku pri vnetnih stanjih prispeva več mehanizmov. Gre predvsem za s citokini inducirano nastajanje NO (9), ki posledično poveča nastajanje cGMP (disfunkcija signalne poti NO-cGMP) (3) in zmanjša znotrajcelično koncentracijo kalcija ter povzroči vazodilatacijo. Hkrati pa zvečana koncentracija NO, celična hipoksija in acidoza aktivirajo od adenozintrifosfata (ATP) odvisne kalijeve kanale, kar povzroči hiperpolarizacijo celične membrane, ki preprečuje zvečanje znotrajcelične koncentracije kalcija, to pa vodi v dilatacijo žilja. Pri kritično bolnih se razvije tudi kortikosteroidna insuficienca, zmanjšane so plazemske koncentracije vazopresina, pride do oksidacije in inaktivacije kateholaminov ter do desenzitizacije adrenergičnih receptorjev, kar vse vodi do izgube žilnega tonusa in do zmanjšane odzivnosti na vazokonstriktorske učinkovine (4, 9, 10). Razvije se na vazokonstriktorje odporna hipotenzija oz. refraktorni šok (11). Vsak vzrok akutne kardiocirkulatorne odpovedi lahko vodi v refraktorni šok, katerega smrtnost dosega tudi 94 % (9).

## 4 POTREBA PO NEADRENERGIČNIH VAZOKONSTRIKTORJIH

Poleg neodzivnosti refraktornega šoka na zdravljenje z adrenergičnimi vazokonstriktori ima dolgotrajna uporaba kateholaminov tudi druge neželene učinke (povečana poraba kisika v miokardu, aritmije), ki lahko dodatno poslabšajo bolnikovo prognozo (12). Zaradi tega so se v zadnjih letih kot pomembna alternativa klasičnemu zdravljenju šoka s simpatomimetiki pojavili neadrenergični vazokonstriktori (2, 12). Trenutno najpogosteje uporabljamo vazopresin,

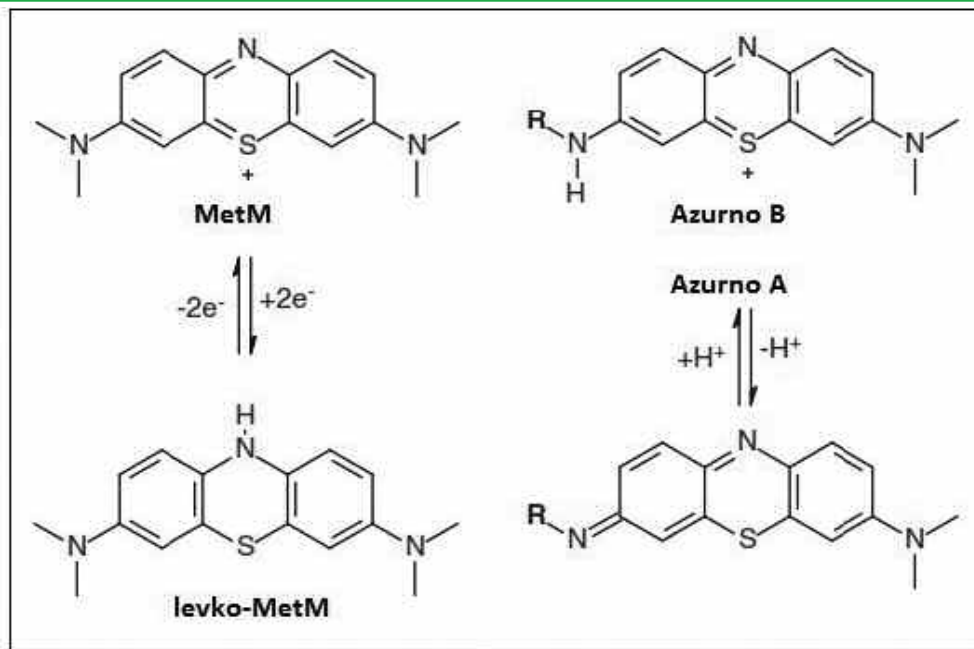


Slika 1. Vpliv metilenskega modrila na z dušikovim oksidom posredovano relaksacijo žilne gladke mišice (povzeto po (3)).

Dušikov oksid nastaja iz L-arginina preko encima sintaza dušikovega oksida (NOS) in povzroča aktivacijo topne gvanilatne ciklaze, ki katalizira nastajanje cikličnega gvanozin-monofosfata (cGMP). Posledično se aktivira od cGMP odvisna kinaza, kar vodi (1) v zmanjšano občutljivost miozina na s kalcijem povzročeno kontrakcijo, (2) v aktivacijo od kalcija odvisnih kalijevih kanalov, kar zmanjša vstop kalcija preko kalcijevih kanalov v celico ter (3) v zmanjšanje sproščanja kalcija iz sarkoplazemskega retikuluma. Vse to vodi v relaksacijo gladke mišice. Metilensko modriilo deluje kot zaviralec NOS in topne gvanilatne sintaze, s čimer povrne žilni tonus.

Figure 1. Effect of methylene blue on nitric oxide mediated relaxation of vascular smooth muscle (adapted from (3)).

Nitric oxide is produced from L-arginin by nitric oxide synthase (NOS) and causes activation of the soluble guanylyl cyclase, which catalyzes production of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) that activates cGMP-dependent protein kinase. This leads (1) to decreased sensitivity of myosin to calcium induced contractions, (2) to activation of calcium-sensitive potassium channels which in turn decreases calcium entry through calcium channels, and (3) to inhibition of release of calcium from the sarcoplasmic reticulum, which in turn leads to smooth muscle relaxation. Methylene blue restores vascular tonus by selectively inhibiting NOS and soluble guanylyl cyclase.



Slika 2. Kemijske strukture metilenskega modrila (MetM), reducirane oblike metilenskega modrila (levko-MetM) in njegovih glavnih metabolitov (azurno B in azurno A) (povzeto po (17, 24)).

Figure 2. Chemical structure of methylene blue (MetM), reduced form of methylene blue (levko-MetM) and his metabolites (Azure B and Azure A) (adapted from (17, 24)).

terlipresin (dolgodelujoči derivat vazopresina) in metilensko modrilo (slika 2) (12, 14). V literaturi se pojavljajo številna klinična poročila in opazovalne študije uporabe navedenih učinkovin pri različnih vrstah šoka, predvsem v zdravljenju distributivnega šoka ob anafilaksiji in sepsi ter vazoplegičnem šoku po kardiokirurških operacijah (12, 14, 15).

#### 4.1. METILENSKO MODRILLO IN NJEGOVA POTENCIALNA UPORABNOST V KLINIČNI PRAKSI

Metilensko modrilo (tetrametilitioninjev klorid) (slika 2) je sintezna spojina, ki jo že vrsto let uporabljamo v industriji in na številnih področjih medicine. Gre za fenotiazinom podobno triciklično aromatsko molekulo, ki je na sobni temperaturi v obliki temnomodrih kristalov brez vonja, dobro topna v vodi in le malo v etanolu (3). Metilensko modrilo so prvič sintetizirali leta 1876, ko so ga pričeli uporabljati kot sintezno barvilo v tekstilni industriji (16), sočasno pa se je izkazalo tudi kot učinkovito barvilo celičnih struktur in kot antiseptik, zato se je razširila njegova uporaba tudi v medicini. Paul Guttman in Paul Ehrlich sta ga leta 1891 prvič aplicirala bolniku kot uspešen poskus zdravljenja malarije (17). Metilensko modrilo tako velja za prvo popolnoma

sintezno učinkovino, ki so jo vnesli v človeško telo (17, 18). Od takrat se je njegova uporaba v moderni medicini precej razširila. Uporabljamo ga kot barvilo v nevroatomiji in bakteriologiji, kot reductent v biokemijskih procesih, v diagnostiki in zdravljenju karcinomov, v fotodinamični terapiji za dermalno zdravljenje dermatoloških in mukokutanih okužb oz. kroničnih obolenj ter kot antiseptik (16, 18). Klinično je indiciran za zdravljenje dedne in akutne, z zdravili povzročene methemoglobinemije, za zdravljenje z ifosfamidom povzročene encefalopatije pri bolnikih z rakom, za zdravljenje malarije in v slikovni diagnostiki tkiv (vizualizacija paratiroidnih žlez pri operaciji). Potekajo številne raziskave o njegovi potencialni uporabi v nevrologiji pri zdravljenju neurodegenerativnih bolezni (Alzheimerjeve bolezni), v psihiatriji in v zdravljenju bolečine (16, 17, 18, 19). Vedno bolj pa postaja zanimiv tudi v zdravljenju akutnega, na simptomimetike neodzivnega vazoplegičnega oz. septičnega šoka (17).

#### 4.2. MEHANIZEM DELOVANJA METILENSKEGA MODRILA

Metilensko modrilo se v telesu nahaja v oksidirani in reducirani (t. i. levko-MetM) obliki (slika 2). V fizioloških razmerah

gre za kation, ki se z nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfatom (NADPH) reducira v levko-MetM, ki je nenabita, lipofilna, brezbarvna spojina, ki enostavno prehaja celične membrane in se v celicah spontano ponovno oksidira s kisikom (16, 17, 18). Oksidirana in levko-MetM oblika tvorita reverzibilen oksidacijsko-redukcijski sistem oz. elektron donor-akceptorski par. Redukcijske lastnosti MetM uporabljamo v zdravljenju methemoglobinemije (deluje kot elektron donor pri neencimski redukciji methemoglobina in ifosfamidno inducirane encefalopatije pri bolnikih z rakom) (18). V oksidiranem stanju MetM močno absorbira svetlobo, preko česar se pretvori v vzbujeno stanje, v katerem je sposoben fotosenzitivnih reakcij, ki privedejo do oksidacij bioloških molekul in nastanka citotoksičnih reaktivnih kisikovih vrst, kar uporabljamo v fotodinamični terapiji in dezinfekciji (16, 18). Ker lahko MetM tako sprejema kot oddaja elektrone, lahko pod različnimi pogoji deluje kot prooksidant ali kot antioksidant (18).

V patofiziologijo distributivnega šoka se metilensko modrilo vpleta preko selektivnega zaviranja NOS in sGC, s čimer povrne žilni tonus (3, 14) (slika 1). Metilensko modrilo neposredno zavira konstitutivno NOS in iNOS preko oksidacije železovega iona, vezanega neposredno na encim, s čimer zavira nastajanje cGMP. Z NO tekmuje za vezavno mesto železo-hem enote sGC in povzroči njeno deaktivacijo (20). Glavni učinek metilenskega modrila je tako povezan z zaviranjem z NO posredovane relaksacije gladkih mišic žilne stene, kar povzroči vazokonstrikcijo (20). Metilensko modrilo *in vitro* modulira transendotelijsko migracijo levkocitov in spodbudi apoptozo endotelijskih celic (21).

### 4.3. FARMAKOKINETIČNE LASTNOSTI METILENSKEGA MODRILA

Metilensko modrilo klinično uporabljamo peroralno v obliki želatinskih kapsul ali intravensko v obliki 1-odstotne vodne raztopine (10 mg/mL) (22). Intravenski terapevtski odmerek znaša 1-2 mg/kg telesne mase, apliciran v 10-20 min, peroralni odmerek znaša 50-300 mg (18). Ob uporabi v diagnostične namene kot barvilo za vizualizacijo tkiv ga apliciramo tudi z injiciranjem v lokalno tkivo, v primeru fotodinamične terapije pa lokalno na prizadeto sluznico oz. kožo. Subkutana, intratekalna ali intraspinalna uporaba niso priporočene (23). Po peroralni aplikaciji se metilensko modrilo dobro absorbira iz gastrointestinalnega trakta (biološka uporabnost znaša 72,3 %), maksimalno plazemsko koncentracijo doseže po 1-2 urah (18, 19). Porazdelitev metilenskega modrila je odvisna od načina aplikacije (22); po peroralni aplikaciji doseže velike koncentracije v intestinalni mukozi in jetrih, po intravenozni aplikaciji pa doseže

večje koncentracije v možganih (17, 18, 19, 22). Njegova koncentracija v celotni krvi je 4- do 5-krat večja kot tista v plazmi, kar nakazuje, da v velikem deležu prehaja v krvne celice in tako izraža velik volumen porazdelitve (18). Razpolovni čas v plazmi je 5-7 ur (18, 22). 65-85 % metilenskega modrila se v eritrocitih in perifernih tkivih reducira v levko-MetM obliko. Metilensko modrilo se metabolizira do *N*-demetiliranih produktov: azurno B, ki je njegov glavni metabolit, in azurno A (slika 2) (24). Azurno B naj bi izražal farmakološke učinke metilenskega modrila, vendar raziskave slednjega še niso nedvoumno potrdile (17, 24). MetM se v večini izloča z urinom, v manjšem deležu pa z žolčem in preko blata. Z urinom se izloči kot mešanica MetM, levko-MetM in demetiliranih metabolitov (17). Metilensko modrilo in njegovi metaboliti povzročajo zeleno-modro obarvanje urina, sline, žolča in kože (18).

### 4.4. UPORABA METILENSKEGA MODRILA PRI SEPTIČNEM ŠOKU

Uporaba metilenskega modrila pri septičnem šoku se je razširila na podlagi poročil kliničnih primerov in posameznih manjših kliničnih raziskav, ki poročajo o izboljšanju hemodinamskega statusa pri distributivnem ali vazoplegičnem šoku (26, 27, 28). Uporaba je povezana s statistično značilnim povečanjem srednjega arterijskega tlaka in zmanjšanjem potrebe po vazokonstriktorjih v primerjavi s placebom (3, 26), medtem ko dokazov o izboljšanem preživetju ali pomembnem zmanjšanju smrtnosti teh bolnikov raziskave niso podale (26, 27). Učinkovit odmerek pri septičnem šoku je povzet iz rezultatov raziskav zdravljenja methemoglobinemije. Priporočen odmerek je 1-2 mg/kg telesne mase, v obliki kontinuirane infuzije, saj je hemodinamski učinek po bolusnem odmerku kratek (3). Poročajo tudi o uporabi začetnega odmerka 2 mg/kg telesne mase, ki mu sledi kontinuirana infuzija hitrosti 0,25 mg/kg telesne mase na uro (9, 25).

### 4.5. NEŽELENI UČINKI, KONTRAINDIKACIJE IN SOUČINKOVANJE METILENSKEGA MODRILA Z DRUGIMI UČINKOVINAMI V PRIMERU ZDRAVLJENJA SEPTIČNEGA ŠOKA

Odmerki metilenskega modrila, večji od 3 mg/kg, lahko zmanjšajo splahnjično perfuzijo in niso priporočeni (9). Pri intravenski aplikaciji velikih odmerkov (>7,0 mg/kg telesne mase) se pojavljajo neželeni učinki v obliki slabosti, abdo-

minalnih bolečin, potenja, glavobola, zmedenosti, vrtoglavice in cianoze (17, 18). Pride lahko do indukcije paradoksnе methemoglobinemije, nevrotoksičnosti in motenj srčnega ritma (13). Zaradi razvoja pljučne hipertenzije in poslabšanja alveolarne izmenjave plinov uporabe metilenskega modrila ne priporočamo pri bolnikih z akutno pljučno poškodbo. Kontraindicirana je tudi uporaba pri bolnikih z znanim pomanjkanjem glukoze-6-fosfata, saj lahko pride do akutne hemolitične anemije (13, 23). Že pri majhnih odmerkih se lahko pojavi modro obarvanje telesnih tekočin, ki pa ni nevarno (3, 18). Uporaba v nosečnosti je kontraindicirana (kategorija X), saj je metilensko modrilo teratogeno (29).

V nadaljevanju predstavljamo izbrane interakcije metilenskega modrila z drugimi učinkovinami, ki lahko povzročijo klinično pomembne učinke. V majhnih odmerkih (manj kot 1 mg/kg telesne mase) deluje kot močan reverzibilni zaviralec monoaminske oksidaze (MAO) in lahko povzroča serotoninski sindrom. Njegova uporaba povzroča serotoninsko toksičnost predvsem v kombinaciji s sočasnim jemanjem inhibitorjev MAO in serotonergikov (selektivnih zaviralcev ponovnega privzema serotonina (SSRI), zaviralcev ponovnega privzema serotonina in noradrenalina (SNRI) ter tricikličnih antidepresivov) (30), zato je pri uporabi omenjenih učinkovin kontraindiciran oz. je potrebna posebna previdnost (17). Kot vsi zaviralci MAO izraža metilensko modrilo tudi farmakodinamično interakcijo z opioidnimi učinkovinami. Pri sočasni uporabi z opioidi lahko pride do razvoja respiratorne depresije, hipotenzije ali kome (23). Sočasna uporaba inhibitorjev MAO in neposredno delujočih simpatomimetikov lahko povzroči zvečanje krvnega tlaka in srčne frekvence, zato sta ob njihovi sočasni uporabi potrebna previdnost in skrben nadzor. Ne priporočamo sočasne uporabe z antiparkinsoniki (metildopa, levodopa), saj lahko pride do razvoja hudih hipertenzivnih reakcij ali hipervzdražnostnih reakcij osrednjega živčevja s halucinacijami (23).

Podatkov o klinično pomembnih farmakokinetičnih interakcijah metilenskega modrila z drugimi zdravili v razpoložljivi relevantni strokovni literaturi ni moč zaslediti.

## 5 SKLEP

Uporaba metilenskega modrila v zdravljenju septičnega šoka temelji na poročilih kliničnih primerov in posameznih

kliničnih raziskav. Zelo malo je randomiziranih kontroliranih raziskav, ki so jih večinoma izvedli na majhnih vzorcih in dajejo predvsem hemodinamične zaključke, ne pa tudi podatkov o zmanjšanju umrljivosti oz. izboljšanju preživetja. Klinična uporaba metilenskega modrila je tako zaenkrat smiselna le kot dodatna terapija v izjemnih primerih, tj. pri bolnikih z zelo rizičnim, refraktornim šokom, če se navedeni bolniki ne odzivajo na standardne možnosti zdravljenja (13).

## 6 LITERATURA

1. Vincent JL, de Backer D. Circulatory Shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 1726-1734.
2. Angus DC, van der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 840-851.
3. Jang DH, Nelson LS, Hoffman S. Methylene Blue for Distributive Shock: A Potential New Use of an Old Antidote. *J Med Toxicol* 2013; 9: 242-249.
4. Landry DV, Oliver JA. The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med* 2001; 345: 8.
5. Forstermann U, Closs EI, Pollock JS et al. Nitric oxide synthase isozymes: characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 1994; 23: 1121-1131.
6. Shaul PW. Regulation of endothelial nitric oxide synthase: location, location, location. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 749-774.
7. Sade K, Schwartz IF, Etkin S et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in a mouse model of anaphylaxis. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2007; 17: 379-385.
8. Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S et al. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev* 2002; 52: 375-413.
9. Bassi E, Park M, pontes Azevedo LC. Therapeutic Strategies for High-Dose Vasopressor-Dependent Shock. *Critical Care Research and Practice* 2013, vol. 2013, Article ID 654708.
10. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 1993; 328: 1471-1477.
11. Levy B, Collin S, Sennoun N et al. Vascular hyporesponsiveness to vasopressors in septic shock: from bench to bedside. *Intensive Care Med* 2010; 36: 2019-2029.
12. Dünser MW, Hasibeder WR. Sympathetic Overstimulation During Critical Illness: Adverse Effects of Adrenergic Stress. *J Intensive Care Med* 2009; 24: 293.
13. Lavigne D. Vasopressin and Methylene Blue: Alternate Therapies in Vasodilatory Shock. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth* 2010; 14: 3186-3189.
14. Beletti A, Musu M, Silveti S et al. Non-Adrenergic Vasopressors in Patients with or at Risk for Vasodilatory Shock. A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Trials. *PLoS One* 2015; 10(11): e0142605.
15. Omar S, Zedan A, Nugent K. Cardiac Vasoplegia Syndrome: Pathophysiology, Risk Factors and Treatment. *Am J Med Sci* 2015; 349: 80-88.
16. Wainwright M, Crossley KB. Methylene Blue – a Therapeutic Dye for All Seasons? *J Chemother* 2002; 14: 431-443.



17. Schirmer HR, Adler H, Pickhardt M et al. "Lest we forget you — methylene blue...". *Neurobiol Aging* 2011; 32(12): 2325.e7-16.
18. Murat O, Lorke DE, Hasan M et al. *Cellular and Molecular Actions of Methylene Blue in the Nervous System. Med Res Rev* 2011; 31: 93-117.
19. Walter-Sack I, Rengelshausen J et al. High absolute bioavailability of methylene blue given as an aqueous oral formulation. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 65: 179-189.
20. Mayer B, Brunner F, Schmidt K. Inhibition of nitric oxide synthesis by methylene blue. *Biochem Pharmacol* 1993; 45: 367-374.
21. Werner I, Guo F, Bogert NV et al. Methylene Blue Modulates Transendothelial Migration of Peripheral Blood Cells. *PLoS One* 2013; 8(12): e82214.
22. Peter C, Hongwan D, K pfer A et al. Pharmacokinetics and organ distribution of intravenous and oral methylene blue. *Eur J Clin Pharmacol* 2000; 56: 247-250.
23. Drugs.com. Methylene blue. <https://www.drugs.com/monograph/methylene-blue.html>. Dostop: 25-10-2016.
24. Petzer A, Harvey BH, Wegener G, et al. Azure B, a metabolite of methylene blue, is a high-potency, reversible inhibitor of monoamine oxidase. *Toxicol Appl Pharm* 2012; 258: 403-409.
25. Jerenec K, Markota A, Sinkovi  A. Uporaba metilenskega modrila – naše prve izkušnje. Sre anje slovenskih in hrvaških intenzivistov, januar 2017 (poslano v objavo).
26. Pasin L, Umbrello M, Greco T et al. Methylene blue as a vasopressor: a meta-analysis of randomised trials. *Crit Care Resusc* 2013; 15: 42-48.
27. Kwok ES, Howes DW. Use of methylene blue in sepsis: a systematic review. *J Intensive Care Med* 2006; 21: 359-363.
28. Donati A, Conti G, Loggi S et al. Does methylene blue administration to septic shock patients affect vascular permeability and blood volume? *Crit Care Med* 2002; 30: 2271-2277.
29. Tiboni GM, Lamonaca D. Transplacental exposure to methylene blue initiates teratogenesis in the mouse: preliminary evidence for a mechanistic implication of cyclic GMP pathway disruption. *Teratology* 2001; 64: 213-220.
30. Top WM, Gillman PK, de Langen CJ et al. Fatal methylene blue associated serotonin toxicity. *Neth J Med* 2014; 72: 179-181.



# MEJNE VREDNOSTI OSTANKOV ZDRAVILNIH UČINKOVIN IN POMOŽNIH SNOVI PO ČIŠČENJU V PROIZVODNIH PROSTORIH

## EXPOSURE LIMITS OF RESIDUES OF ACTIVE INGREDIENTS AND EXCIPIENTS AFTER CLEANING IN PRODUCTION FACILITIES

AVTOR / AUTHOR:

Nevenka Kragelj Lapanja, mag. farm.  
prof. dr. Marija Sollner Dolenc, mag. farm.

*Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo  
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:  
marija.sollner@ffa.uni-lj.si

### POVZETEK

Pri proizvodnji različnih zdravil v istih objektih ali na isti opremi lahko pride do prenosa zdravilne učinkovine ali drugih sestavin farmacevtskega izdelka v naslednji izdelek. Da bi preprečili negativen vpliv na učinkovitost in/ali varnost zdravila, moramo izvajati redno čiščenje proizvodne opreme, vrednosti ostankov zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi po čiščenju pa ustrezno zamejiti. Leta 2014 izdana smernica EMA za določanje mejnih vrednosti pri izdelavi različnih zdravil v skupnih objektih (EMA/CHMP/CVMP/SWP/169430/2012) opisuje pristop določitve mejne vrednosti na podlagi pregleda in vrednotenja farmakoloških in toksikoloških podatkov posameznih zdravilnih učinkovin. Kot osnovo za izračun varnih mej smernica EMA navaja principa dovoljene in sprejemljive dnevne izpostavljenosti, možna pa je tudi uporaba drugih znanstveno utemeljenih pristopov. Eden izmed pristopov je uporaba podatkov, ki so bili pridobljeni za oceno varnosti delavcev. V članku prikazujemo razlike v določanju mejne vrednosti ostankov zdravil ali pomožnih snovi med obema pristopoma, kot tudi med pristopom dovoljene dnevne izpostavljenosti in pristopom, ki se je uporabljal pred izdajo smernice EMA. Čeprav je stara metoda za nekatere primere povsem ustrezna ali celo bolj konservativna od novega pristopa, je pristop v skladu s smernico EMA bolj primeren za določitev mejnih vrednosti zdravilnih učinkovin.

### KLJUČNE BESEDE:

mejne vrednosti ostankov zdravil, NOAEL, proizvodni prostori, PDE

### ABSTRACT

When producing different medicinal products in shared facilities or equipment, the potential for cross-contamination is a concern. To prevent the effect of contaminants to the effectiveness and/or safety of medicines, the manufacturing equipment needs to be cleaned regularly and the carry-over limits for cleaning validation studies need to be adequately determined. In 2014, an EMA 'Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities' (EMA/CHMP/CVMP/ SWP/169430/2012) was published. The

guideline describes an approach to review and evaluate pharmacological and toxicological data of individual active substances and thus enable determination of threshold levels. The derivation of such a threshold should be based on the use of PDE and ADE. However, other scientifically justified approaches can be used. One of them is the approach that is based on the use of occupational safety data. This article summarises the differences in setting the exposure limits between the two approaches, as well as between the PDE approach and approach used before EMA guideline. The approach in line with EMA guideline is considered more appropriate to establish appropriate exposure limits. In some cases, however, the old method is still suitable, or even more conservative than the new approach.

#### KEY WORDS:

exposure limits of medicinal products residues, LOAEL, manufacturing facilities, NOAEL, PDE

## 1 UVOD

V primeru proizvodnje različnih zdravil v istih objektih ali na isti opremi lahko pride do navzkrižne kontaminacije oz. prenosa zdravilne učinkovine ali drugih sestavin farmacevtskega izdelka v naslednji izdelek. To lahko negativno vpliva na učinkovitost in/ali varnost zdravila. Zato moramo po vsakem končanem procesu proizvodnje zdravilnih učinkovin ali farmacevtskih izdelkov izvesti čiščenje proizvodne opreme, vrednosti ostankov zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi v proizvodnji zdravil pa ustrezno zamejiti. Zahteva po čiščenju proizvodne opreme se je prvič pojavila leta 1963 znotraj predpisov dobre proizvodne prakse (GMP), ki jih je objavil Ameriški urad za prehrano in zdravila (FDA) (1). Posledično so podjetja začela več pozornosti posvečati tudi tej fazi proizvodnje zdravil.

Novembra 2014 je EMA izdala smernico za določanje mejnih vrednosti pri izdelavi različnih zdravil v skupnih objektih (*Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities*) (2). Smernica je v veljavo stopila junija 2015 za nova in decembra 2015 za obstoječa zdravila. Januarja 2015 je Evropska komisija prav tako re-

vidirala poglavji 3 in 5 v evropski Dobri proizvodni praksi, ki opisujeta preprečevanje navzkrižne kontaminacije (3). Oktobra 2015 je v veljavo stopil nov Dodatek 15 (Validacija in kvalifikacija) k Dobri proizvodni praksi (4). Revidiran Dodatek 15 v poglavju Validacija čiščenja določa, da morajo mejne vrednosti ostankov komponent farmacevtskih izdelkov temeljiti na toksikoloških podatkih. Pri tem se Dodatek neposredno sklicuje na smernico EMA za določanje mejnih vrednosti za prepoznavo tveganj pri izdelavi različnih zdravil v skupnih objektih (2), s čimer je slednja dobila pravno podlago v proizvodnji zdravil. Namen smernice EMA je predlagati pristop določitve mejne vrednosti ostankov zdravilnih učinkovin ali pomožnih snovi na podlagi pregleda in vrednotenja farmakoloških in toksikoloških podatkov posameznih zdravilnih učinkovin. Na ta način določene mejne vrednosti lahko uporabimo za določitev tveganja ali utemeljitev mej v validacijah čiščenja (2). Pred tem so meje dovoljenega ostanka določali po metodi, ki sta jo predlagala Fourman in Mullen (5), in temelji na naslednjih kriterijih:

- največ 1/1000 minimalnega terapevtskega odmerka zdravilne učinkovine se lahko prenese v največji odmerek naslednjega farmacevtskega izdelka;
- največja dovoljena vrednost v naslednjem farmacevtskem izdelku je 10 ppm;
- po končanem postopku čiščenja je oprema vizualno čista.

V nasprotju s prvotno metodo, ki je mejo določila na podlagi nespecifičnih in neselektivnih kriterijev, je glede na sedaj veljavno smernico EMA potrebno pri določanju za zdravje varne meje oz. dovoljene dnevne izpostavljenosti (PDE, *permitted daily exposure*) upoštevati vse farmakološke in toksikološke podatke, ki so na voljo (tako klinične kot ne-klinične). Do navzkrižne kontaminacije med proizvodnjo zdravil lahko pride zaradi nenadzorovanega izpusta prašnih delcev, plinov ali par, aerosolov, pomožnih snovi, genetskega materiala ali organizmov iz zdravilnih učinkovin. Ostanki zdravilnih učinkovin ali pomožnih snovi lahko izvirajo tudi iz opreme ali oblačil zaposlenih. V nadaljevanju predstavljamo način izračuna dovoljene dnevne izpostavljenosti, kot ga narekuje smernica EMA.

## 2 IZRAČUN DOVOLJENE DNEVNE IZPOSTAVLJENOSTI (PDE)

PDE predstavlja odmerek določene substance, pri katerem je tveganje za nastanek neželenih učinkov zelo majhno.



Pri tem se upošteva vsakodnevno doživljenjsko izpostavljenost. Za njeno določitev moramo najprej oceniti tveganje na podlagi ustreznih podatkov. Nato moramo prepoznati najbolj tvegan učinek ter določiti t. i. vrednost NOAEL oz. najvišji testni odmerek, pri katerem ni moč zaznati nobenih škodljivih učinkov (*no-observed-adverse-effect-level*). Na koncu moramo upoštevati različne korekcijske oz. varnostne faktorje, ki omogočajo ublažitev razlik med človeško in živalsko vrsto.

Pri izračunu PDE moramo upoštevati tudi odmerek zdravila glede na telesno maso bolnika. Zato je priporočljiva uporaba enote mg zdravila/kg telesne mase.

Tveganje določimo na podlagi pregleda vseh ustreznih podatkov, pridobljenih na živalih ali ljudeh. Ti podatki vključujejo neklinične farmakodinamske študije, toksikološke študije pri ponavljajočih se odmerkih, študije rakotvornosti, *in vivo* in *in vitro* študije genotoksičnosti, študije toksičnega vpliva na sposobnost razmnoževanja in razvoja ter klinične študije. Med vsemi študijami nato identificiramo najbolj škodljive učinke. Zanje nato določimo vrednosti NOAEL. Če le-teh ne moremo določiti, lahko uporabimo vrednost LOAEL oz. najnižji testni odmerek, pri katerem smo opazili škodljive učinke (*lowest-observed-adverse-effect-level*). V imenovalcu enačbe nato upoštevamo še pet različnih varnostnih faktorjev:

- F1: faktor, ki upošteva razlike med živalskimi vrstami (vrednosti 2-12);
- F2: faktor, ki upošteva razlike med posamezniki znotraj človeške vrste (vrednost 10);
- F3: faktor, ki upošteva kratkotrajne študije s ponavljajočimi se odmerki (vrednost 10);
- F4: faktor, ki se upošteva v primeru resnih toksičnih učinkov, npr. nevrotoksičnost, teratogenost, negenotoksična kancerogenost (vrednosti 1-10);
- F5: faktor, ki se upošteva, ko vrednosti NOEL ne moremo določiti (vrednosti 1-10).

Ko v istih proizvodnih prostorih zaporedoma proizvajamo dve zdravili, ki imata različni poti vnosa in se to odraža v različni biološki uporabnosti, moramo upoštevati dodaten korekcijski faktor za omilitev teh razlik. Ker se biološka uporabnost razlikuje tudi med vrstami, je priporočljivo, da korekcijski faktor temelji na podatkih na človeku oz. ustrezni živalski vrsti v primeru veterinarskih zdravil.

Nekatere zdravilne učinkovine moramo obravnavati ločeno. Tak primer so učinkovine z genotoksičnim potencialom. Smernica EMA za določanje mejnih vrednosti genotoksičnih nečistot (6) je opredelila t. i. prag toksikološkega tveganja oz. mejo TTC (*threshold of toxicological concern*). Le-ta

ustreza vrednosti 1,5 µg/dan, pri kateri je tveganje za rakotvornost ali druge toksične učinke katere koli neraziskane snovi zelo nizko (1 pojav raka na 100.000 bolnikov). Ker je izpostavljenost zaostankom zdravilnih učinkovin v proizvodnji običajno zelo nizka (vrednost zaostanka zdravilne učinkovine se namreč zmanjšuje z vsako serijo), mejo TTC uporabljamo kot primeren pristop tudi za določitev mejnih vrednosti po čiščenju v proizvodnih prostorih. Genotoksične zdravilne učinkovine, za katere obstaja dovolj podatkov o rakotvornosti, moramo zamejiti v skladu z mejo, pri kateri specifična spojina še ne dosega toksičnosti. Pri obravnavi genotoksičnih oz. mutagenih nečistot moramo slediti smernici ICH M7, ki je bila izdana junija 2014 (7). Enako kakor smernica EMA tudi ICH M7 opredeljuje uporabo pristopa TTC.

Ločeno moramo obravnavati tudi učinkovine, ki povzročajo preobčutljivost. Dobra proizvodna praksa predpisuje, da je potrebno take učinkovine proizvajati v posebej za to namenjenih, ločenih prostorih.

V primeru proizvodnje terapevtskih makromolekul in peptidov proizvodno opremo običajno čistimo pod ekstremnimi pogoji (pH, visoka temperatura), saj s tem povzročimo denaturacijo oz. razpad molekul. Zato določitev mejnih vrednosti ni potrebna, razen če obstaja možnost kontaminacije iz drugih virusov.

V primeru zdravilnih učinkovin, za katere obstaja zelo malo ali nič podatkov o toksičnosti na sposobnost razmnoževanja in razvoj, je priporočljivo uporabiti dodaten varnostni faktor 10. Za zdravila v zgodnjih fazah razvoja prav tako zelo pogosto nimamo veliko podatkov. V tem primeru uporabimo pristop, ki temelji na pričakovanem farmakološkem učinku in toksičnosti (2).

### 3 PRIMERJAVA MEJ DOVOLJENEGA OSTANKA, DOLOČENIH PO STAREM IN NOVEM PRINCIPU

Glavna novost določanja mej dovoljenega ostanka je vplejta toksikološko utemeljenih meja. Rapuševa (8) je v svojem delu primerjala meje dovoljenega ostanka, določene po stari in novi smernici. Izbrala je štiri različne zdravilne učinkovine, ki predstavljajo izzive pri validaciji čiščenja (npr. slabo topne zdravilne učinkovine, zdravilne učinkovine, ki so same po sebi toksične ali pa lahko povzročijo preobčutljivost). Za izbrane zdravilne učinkovine je določila meje tako po principu ene tisočinke minimalnega terapevtskega

odmerka kot tudi po principu PDE. Meje, določene po starem principu, so bile v dveh primerih višje (manj stroge) od mej, določenih po principu PDE, v enem primeru je bila določena enaka meja, v enem primeru pa je bila meja določena po starem principu nižja (strožja) od meje, izračunane po PDE principu. Razlog za nižjo mejo v zadnjem primeru je v nizkem odmerjanju zdravilne učinkovine (8).

## 4 ALTERNATIVNI PRISTOPI ZA DOLOČANJE VARNIH MEJ

Po objavi smernice EMA se je oblikovala delovna skupina, sestavljena iz toksikologov in strokovnjakov za čiščenje proizvodne opreme, z namenom raziskati novo smernico in njene pristope k določitvi mejnih vrednosti ostankov zdravil (9). Skupina je ocenila, da je rok za implementacijo smernice precej strog, upoštevajoč veliko število obstoječih vlog. Smernica namreč predpisuje ponovno določitev mej v skladu z vrednostmi PDE za vse vloge. To se lahko odraža tudi v potrebi po ponovni izvedbi validacije čiščenja, nižjih mejah za analizo določanje ter ponovni validaciji analiznih metod. Kot osnovo za izračun varnih mej smernica EMA navaja princip PDE in princip sprejemljive dnevne izpostavljenosti (ADE, *acceptable daily exposure*). Obe vrednosti predstavljata odmerek, pri katerem ni moč zaznati neželenih učinkov niti pri doživljenjski uporabi.

Smernica omogoča tudi uporabo drugih znanstveno utemeljenih pristopov, ki jih je podrobneje raziskala omenjena delovna skupina. Alternativni pristop za določanje varnih mej temelji na obstoječih podatkih o jakosti delovanja in toksičnosti, ki so bili pridobljeni za oceno varnosti delavcev. Vrednost ADE se na ta način lahko določi na podlagi omejitve poklicne izpostavljenosti (OEL, *occupational exposure limits*) ali vrednosti OEB (*occupational exposure banding*). Določitev OEL temelji na enaki osnovi kakor določitev ADE ali PDE. Ko je vrednost OEL izpeljana na znanstveno utemeljen način, jo lahko uporabimo za določitev mejnih vrednosti. Monografije OEL običajno vključujejo podatke o jakosti delovanja in toksičnosti substanc, ki so bili določeni na podlagi relevantnih kliničnih in nekliničnih preizkušanj. Ker je vrednost OEL pogosto izpeljana ravno iz minimalnega terapevtskega odmerka, je vrednost ADE, določena kot ena tisočinka minimalnega terapevtskega odmerka, povsem dovolj konzervativna za večino spojin. Izjema so tiste, ki lahko povzročijo neželene učinke blizu minimalnim terapevtskim odmerkom ali celo pod njimi (npr. onkološka

zdravila). Ko ni na voljo dovolj podatkov za določitev vrednosti OEL, lahko uporabimo vrednost OEB. Slika 1 prikazuje odločitveno drevo, ki pomaga pri oceni ustreznosti obstoječih mejnih vrednosti na podlagi OEL in OEB. Delovna skupina je na podlagi odločitvenega drevesa prišla do zaključka, da sta pristop OEL in pristop ene tisočinke minimalnega terapevtskega odmerka primerna za določanje mejnih vrednosti pod naslednjimi pogoji:

- za obstoječa zdravila z dovoljenjem za promet, za katera je bila mejna vrednost določena na podlagi ene tisočinke minimalnega terapevtskega odmerka;
- ko je na voljo monografija OEL, ki vključuje toksikološko oceno relevantnih kliničnih in nekliničnih podatkov;
- ko je farmakološka aktivnost zdravila hkrati tudi najbolj kritičen učinek (9).

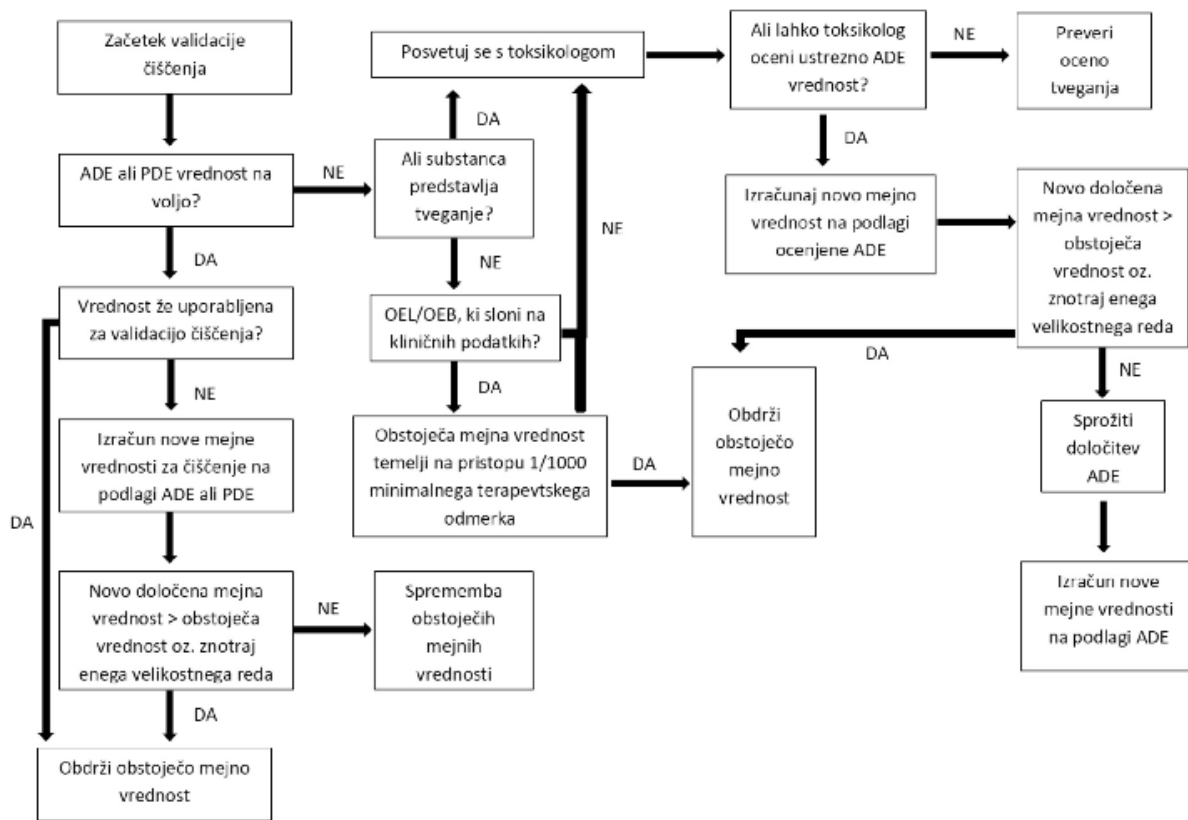
### PRIMER IZRAČUNA SPREJEMLJIVE DNEVNE IZPOSTAVLJENOSTI (ADE) NA PODLAGI OMEJITVE POKLICNE IZPOSTAVLJENOSTI (OEL)

Spojina A ima minimalni terapevtski odmerek 2,5 mg/dan. Vrednost OEL je 2,5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  pri povprečni izpostavljenosti 8 ur. Vrednost ADE ocenimo na sledeč način:

Če primerjamo vrednost ADE, ki je bila ocenjena na podlagi OEL, lahko vidimo, da je le-ta 10-krat večja od ene tisočinke minimalnega terapevtskega odmerka (25  $\mu\text{g}$  v primerjavi z 2,5  $\mu\text{g}$ ). Na podlagi tega lahko ocenimo, da določitev vrednosti ADE za spojino A ne bi bila nujno potrebna, saj je obstoječa mejna vrednost za čiščenje povsem ustrezna (9).

## 5 SKLEP

Smernica EMA (2) je v izračun mejnih vrednosti ostankov zdravilnih učinkovin in pomožnih snovi po čiščenju v proizvodnih prostorih vpeljala pristop, ki temelji na farmakoloških in toksikoloških podatkih zdravilnih učinkovin. Na ta način določene vrednosti so vsekakor bolj relevantne za posamezne zdravilne učinkovine kakor predhodno določene meje, ki niso bile toksikološko utemeljene. Kljub temu pa njihova določitev še zdaleč ni enostavna. Za določitev vrednosti PDE je namreč potrebno veliko ekspertnega znanja in izkušenj, ki nam pomagajo pri določitvi tveganja na podlagi pregleda vseh toksikoloških študij, ki so na voljo. Vse prej kot enostavna je tudi izbira varnostnih faktorjev, ki jih upoštevamo



Slika 1: Odločitveno drevo za oceno primernosti mejnih vrednosti za čiščenje, določenih na podlagi omejitve poklicne izpostavljenosti (OEL).  
Figure 1: Decision tree for evaluating the effectiveness of existing cleaning limits using the occupational exposure limits (OEL).

pri izračunu PDE. Poleg tega so tako določene meje pogosto izredno nizke, kar predstavlja velik izziv za farmacevtsko industrijo (ponovna izvedba validacije čiščenja, ponovna validacija analiznih metod). Pri tem moramo poudariti, da nas uporaba pristopa PDE ne pripelje vedno do strožjih meja. Kot je v primerjavi mej dovoljenega ostanka, določenih po stari in novi smernici pokazala Rapuševa (8), je lahko meja, določena po pristopu PDE, tudi višja oz. manj stroga od meje, določene po starem pristopu. Na podlagi tega lahko ocenimo, da po principu ene tisočinke minimalnega terapevtskega odmerka ne moremo vedno določiti mejnih vrednosti za posamezne zdravilne učinkovine, ki bi odražale dejansko tveganje za varnost in učinkovitost zdravil. Čeprav je stara metoda za nekatere primere povsem ustrezna ali celo bolj konservativna od novega pristopa, je pristop v skladu s smernico EMA bolj primeren za določitev mejnih vrednosti zdravilnih učinkovin. Pri vsem tem ostaja nedvoumno, da moramo čiščenje skrbno načrtovati ter temeljito izvajati, saj lahko le tako zagotovimo skladnost z veljavno regulativo, predvsem pa varnost zdravila.

## 6 LITERATURA

1. Food and Drug Administration (FDA). Guide to inspections validation of cleaning processes. <http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074922.htm>. Dostop: 01-09-2016.
2. European Medicines Agency (EMA). Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2014/11/WC500177735.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/11/WC500177735.pdf). Dostop: 01-09-2016.
3. European Compliance Academy (ECA). Revision of the EU GMP Guide: EU Commission Publishes Proposals for Chapters 3, 5, 6 and 8. [http://www.gmp-compliance.org/enews\\_3518\\_Revision%20of%20the%20EU%20GMP%20Guide%3A%20EU%20Commission%20Publishes%20Proposals%20for%20Chapters%203,%205,%206%20and%208.html](http://www.gmp-compliance.org/enews_3518_Revision%20of%20the%20EU%20GMP%20Guide%3A%20EU%20Commission%20Publishes%20Proposals%20for%20Chapters%203,%205,%206%20and%208.html). Dostop: 04-09-2016.
4. European Commission. EU guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Annex 15: Qualification and Validation.

- [http://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2015-10\\_annex15.pdf](http://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2015-10_annex15.pdf). Dostop: 17-01-2017.
5. Fourman GL, Mullen VM. Determining cleaning validation acceptance limits for pharmaceutical manufacturing operations. *Pharm Tech* 1993; 54-60.
  6. European Medicines Agency (EMA). Guideline on the limits of genotoxic impurities. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500002903.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002903.pdf). Dostop: 07-09-2016.
  7. International Conference on Harmonisation (ICH) M7 Tripartite Guideline. Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk. [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M7/M7\\_Step\\_4.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M7/M7_Step_4.pdf). Dostop: 07-09-2016.
  8. Rapuš M. Primerjava regulatornih zahtev za vrednotenje dovoljenih ostankov kontaminantov po čiščenju opreme v farmacevtski proizvodnji (Magistrsko delo). [http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/magistrske/2015/Rapus\\_Mateja\\_mag\\_nal\\_2015.pdf](http://www.ffa.uni-lj.si/fileadmin/datoteke/Knjiznica/magistrske/2015/Rapus_Mateja_mag_nal_2015.pdf). Dostop: 16-01-2017.
  9. Teasdale A. EMA guideline on setting health-based exposure limits. *Pharm Tech* 2016; 40(1): 58-62.



# ANDROGENI IN RAK ENDOMETRIJA – MOŽNOSTI NOVIH PRISTOPOV ZDRAVLJENJA

## ANDROGENS AND ENDOMETRIAL CANCER – POTENTIAL NOVEL THERAPEUTICAL APPROACHES

AVTOR / AUTHOR:

Tamara Knific, mag. farm.  
prof. dr. Tea Lanišnik Rižner

*Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta  
Inštitut za biokemijo  
Vrazov Trg 2, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:  
tamara.knific@mf.uni-lj.si

### POVZETEK

Rak endometrija je najpogostejši rak ženskega reprodukcijskega sistema. Bolezen je značilna predvsem za ženske po menopavzi, pojavlja pa se tudi pri ženskah pred menopavzo. Nastanek raka endometrija razlagamo s hipotezo, da povečana koncentracija endogenih ali eksogenih estrogenov ob sočasni zmanjšani koncentraciji progesteronov privede do proliferacije endometrija in do povečanega števila celičnih delitev ter posledično do večje možnosti nastanka genetskih napak, ki vodijo v hiperplazijo endometrija in rak endometrija. V zadnjem času raziskave kažejo, da je rak endometrija povezan tudi z učinki androgenov. Epidemiološke raziskave povezujejo povečane serumske koncentracije androgenov z večjim tveganjem za razvoj raka endometrija, medtem ko raziskave na celičnih linijah in vzorcih tkiva kažejo na zaščitno vlogo androgenov pri razvoju tega raka. Vloga androgenov pri raku endometrija trenutno še ni v celoti pojasnjena. Potrebne so dodatne raziskave, ki bodo opredelile natančen mehanizem delovanja in vlogo androgenov pri razvoju in napredovanju raka endometrija, kar bo v prihodnje omogočilo nove možnosti zdravljenja te bolezni.

### KLJUČNE BESEDE:

encimi, androgeni, metabolizem, rak endometrija, receptor za androgene

### ABSTRACT

Endometrial cancer is the most common female gynecological malignancy, with the vast majority of cases arising in women after menopause and with lower incidence in premenopausal women. Development of endometrial cancer is usually explained with the unopposed estrogen hypothesis, which proposes that exposure to estrogens that is not opposed by progesterons stimulates proliferation of endometrium and increases DNA replication errors. This may lead to endometrial hyperplasia and cancer. Studies from the last years suggest that also androgens are implicated. Epidemiological data show associations between the increased serum levels of androgens and increased risk of endometrial cancer, although studies on cell lines and cancerous tissue reveal their protective role. The role



of androgens in the development of endometrial cancer has not yet been fully elucidated. Further studies are needed to better understand the mechanisms and role of androgens in the development and progression of endometrial cancer that could lead to identification of potential novel treatment of this disease.

**KEY WORDS:**

androgens, androgen receptor, endometrial cancer, enzymes, metabolism

# 1 RAK ENDOMETRIJA

Rak endometrija je peti najpogostejši rak pri ženskah v Sloveniji z največjo pojavnostjo med 50. in 64. letom (1). V svetovnem merilu na letni ravni zbolijo več kot 320.000 žensk, od teh jih 70.000 umre. Incidenca je večja v razvitih regijah kot v manj razvitih državah (2). Na podlagi kliničnih in histopatoloških značilnosti lahko rak endometrija delimo v dve obliki. Večino sporadičnih primerov (80-90 %) predstavlja dobro diferenciran in od estrogenov odvisen tip 1, ki se razvije prek hiperplazije endometrija in je značilen tako za ženske pred menopavzo kot tudi po njej. Tip 2, ki naj ne bi bil odvisen od estrogenov in je značilen predvsem za starejše ženske po menopavzi, se razvije *de novo* iz atrofničnega endometrija z mutacijami genov, ki zavirajo rast tumorja, in ima slabšo napoved o izidu bolezni (3). Poznamo tudi gensko pogojeno obliko raka endometrija, pri kateri gre za mutacije v genih popravljanih mehanizmov DNA, za tako imenovani Lynchev sindrom (4). Integrirani genovski, transkriptomski in proteomski pristop je leta 2013 privedel do nove razvrstitve raka endometrija v štiri skupine (preglednica 1) (5).

Dejavniki tveganja za razvoj raka endometrija so debelost, sladkorna bolezen, arterijska hipertenzija, zgodnja prva menstruacija in/ali pozna menopavza, izostanek ovulacije, hiperandrogenizem, uporaba eksogenih estrogenov ali prekomerna tvorba endogenih estrogenov (3, 6). Številni dejavniki tveganja tako potrjujejo splošno uveljavljeno hipotezo, da kronična izpostavljenost estrogenom brez zaščitnega delovanja progesterona ali progestinov vodi v razvoj raka endometrija (7). V zadnjem času mnoge raziskave kažejo, da se tudi androgeni vpletajo v razvoj raka endometrija, vendar njihova vloga še ni v celoti raziskana. Boljše razumevanje vloge androgenov bo tako prispevalo k odkritju novih možnosti zdravljenja, saj bi encimi biosinteze in metabolizma androgenov ter receptorji za androgene lahko predstavljali nove tarče za razvoj zdravilnih učinkovin (8).

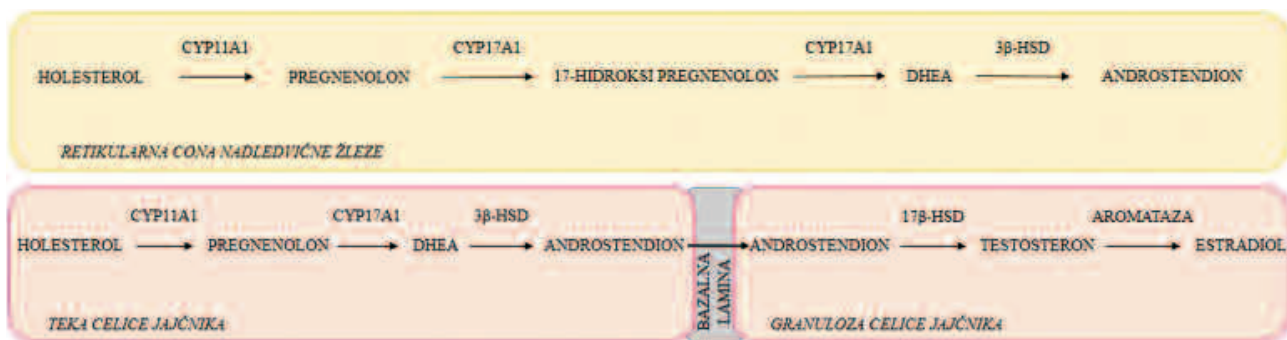
# 2 SINTEZA ANDROGENOV IN NJIHOVO DELOVANJE

Pri ženskah poteka sinteza androgenov v skorji nadledvične žleze in v jajčnikih (slika 1). V retikularni coni nadledvične žleze se iz holesterola s pomočjo holesterol-dezmozolaze (CYP11A1) sintetizira pregnenolon. Sledi pretvorba pregnenolona v dehidroepiandrosteron z mikrosomalnim encimom CYP17A1, ki deluje kot 17 $\alpha$ -hidroksilaza in tako pretvori pregnenolon v 17-hidroksipregnenolon, deluje pa tudi kot 17,20-liaza in tako pretvori 17-hidroksipregnenolon v dehidroepiandrosteron (9). Dehidroepiandrosteron se s pomočjo 3 $\beta$ -hidroksisteroid-dehidrogenaze (3 $\beta$ -HSD) tipa 2 pretvori v androstendion (10) (slika 1). V nadledvični žlezi poteka tudi konjugacija androgenov s sulfatom in glukuronsko kislino. Tako nastali metaboliti se izločijo iz organizma. V rodni dobi se androgeni sintetizirajo tudi v jajčnikih, v katerih poteka sinteza iz holesterola do androstendiona v ce-

*Preglednica 1: Delitev raka endometrija na podlagi integriranega pristopa (5).*

SKUPINA	ODSTOTEK
Rak z zelo velikim številom mutacij, vključujoč mutacije v DNA-polimerazi epsilon	7 %
Rak z velikim številom mutacij zaradi nestabilnosti v popravljanih mehanizmih DNA in mikrosatelitih	28 %
Rak z manj spremembami v številu kopij DNA	39 %
Rak z več spremembami v številu kopij DNA	26 %



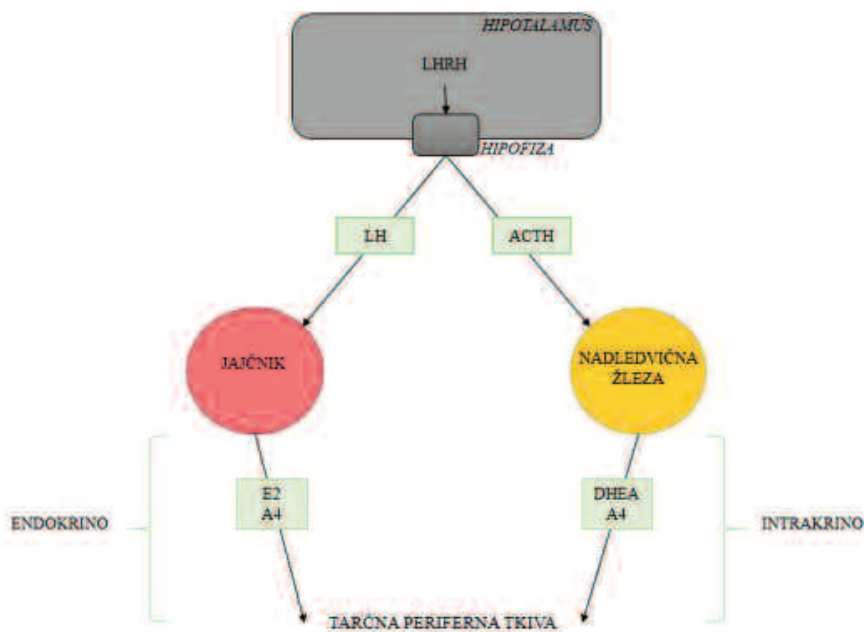


Slika 1: Sinteza androgenov v nadledvični žlezi in jajčnikih. 3β-HSD - 3β-hidroksisteroid-dehidrogenaza; 17β-HSD - 17β-hidroksisteroid-dehidrogenaza; CYP11A1 - holesterol-dezmolaza; CYP17A1 - 17α-hidroksilaza; DHEA - dehidroepiandrosteron.

Figure 1: Androgen synthesis in adrenal gland and the ovaries. 3β-HSD - 3β-hydroxysteroid dehydrogenase; 17β-HSD - 17β-hydroxysteroid dehydrogenase; CYP11A1 - cholesterol desmolase; CYP17A1 - 17α-hydroxylase; DHEA - dehydroepiandrosterone.

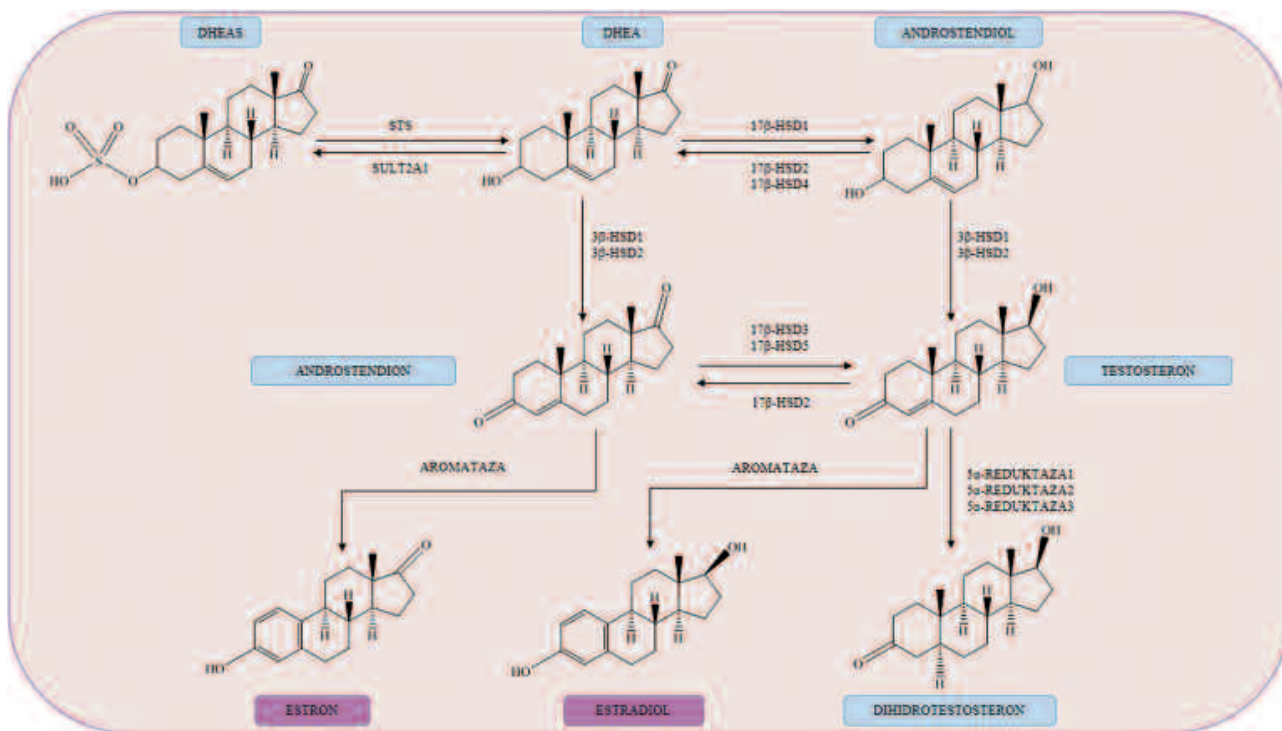
licah teke pod vplivom luteinizirajočega hormona (LH) s pomočjo encimov CYP11A1, CYP17A1 in 3β-HSD tipa 2. V celicah granuloze se s pomočjo encima aromataze iz androstendiona sintetizira estron, 17β-hidroksisteroid-dehidrogenaza (17β-HSD) tipa 1 pa katalizira redukcijo estrona v estradiol (11) (slika 1).

Po menopavzi poteka sinteza spolnih hormonov v perifernih tkivih, predvsem v maščevju (slika 2) (12). Androgeni se v teh perifernih tkivih lahko tvorijo iz neaktivne prekursorske molekule, kot je dehidroepiandrosteron sulfat. S pomočjo sulfataze se dehidroepiandrosteron sulfat pretvori v dehidroepiandrosteron, ta pa se nadalje pretvori s



Slika 2: Sinteza androgenov pri ženskah. A4 - androstendion; ACTH - adrenokortikotropni hormon; DHEA - dehidroepiandrosteron; E2 - estradiol; LH - luteinizirajoči hormon; LHRH - luteotropin sproščajoči hormon.

Figure 2: Androgen synthesis in women. A4 - androstenedione; ACTH - adrenocorticotrophic hormone; DHEA - dehydroepiandrosterone; E2 - estradiol; LH - luteinizing hormone; LHRH - luteinizing hormone releasing hormone.



**Slika 3:** Sinteza in metabolizem androgenov v perifernih tkivih.  $3\beta$ -HSD -  $3\beta$ -hidroksisteroid-dehidrogenaza;  $17\beta$ -HSD -  $17\beta$ -hidroksisteroid-dehidrogenaza; DHEA - dehidroepiandrosteron; DHEAS - dehidroepiandrosteron sulfat; STS - sulfataza; SULT2A1 - sulfotransferaza. **Figure 3:** Androgen synthesis and metabolism in peripheral tissue.  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase;  $17\beta$ -HSD -  $17\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase; DHEA - dehydroepiandrosterone; DHEAS - dehydroepiandrosterone sulfate; STS - steroid sulfatase; SULT2A1 - sulfotransferase.

pomočjo encimov  $3\beta$ -HSD tipov 1 in 2,  $17\beta$ -HSD tipa 5 ter  $5\alpha$ -reduktaze tipov 1 in 2 v androstendion, testosteron in  $5\alpha$ -dihidrotestosteron (slika 3). Testosteron in dihidrotestosteron imata največjo afiniteto za vezavo na receptor za androgene ( $K_d = 10^{-9}$  M in  $10^{-11}$  M), medtem ko imata androstendion ter dehidroepiandrosteron majhno afiniteto vezave za receptor za androgene (13).

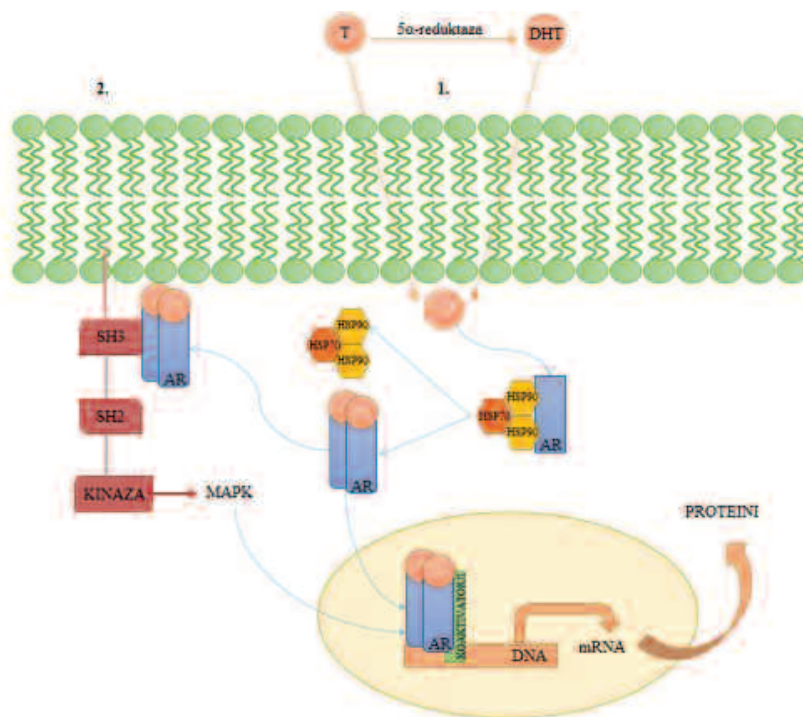
Receptor za androgen spada v skupino steroidnih jedrnih receptorjev in deluje kot transkripcijski dejavnik (14). Primarni mehanizem delovanja androgenov tako predstavlja neposredna aktivacija receptorja in posledično uravnavanje izražanja genov (slika 4). Protein receptorja za androgene je sestavljen iz štirih domen: iz N-terminalne domene, DNA-vezavne domene, fleksibilne domene in domene za vezavo liganda (15). Doslej so opisali dve izoobliki: A (87 kDa) in B (110 kDa), ki se razlikujeta v številu aminokislin na N-terminalnem delu (16). Genomske mehanizme delovanja androgenov prikazuje slika 4.

Izsledki nedavnih raziskav dokazujejo, da lahko androgeni delujejo tudi brez neposredne vezave na receptor in vpliva na

izražanje genov. Androgeni lahko stimulirajo kaskadne reakcije sekundarnih prenašalcev prek različnih mehanizmov (slika 5).

## 3 VLOGA ANDROGENOV PRI ŽENSKAH

Androgene poznamo predvsem kot moške spolne hormone, vendar imajo pomembne vloge tudi pri ženskah (18-20). Raziskave kažejo, da ne predstavljajo le izhodnih spojin v sintezi estrogenov, ampak da lahko delujejo tudi prek aktivacije receptorja za androgene. Pri ženskah pred menopavzo in po njej se v krvi nahajajo različne koncentracije androgenov oziroma prekurzorjev androgenov, prohormonov, ki se aktivirajo v perifernem tkivu (21). Največ je dehidroepiandrosteron sulfata, sledita pa dehidroepiandrosteron in androstendion (preglednica 2). Pri ženskah v rodni dobi je raven androgenov povezana s fazo men-



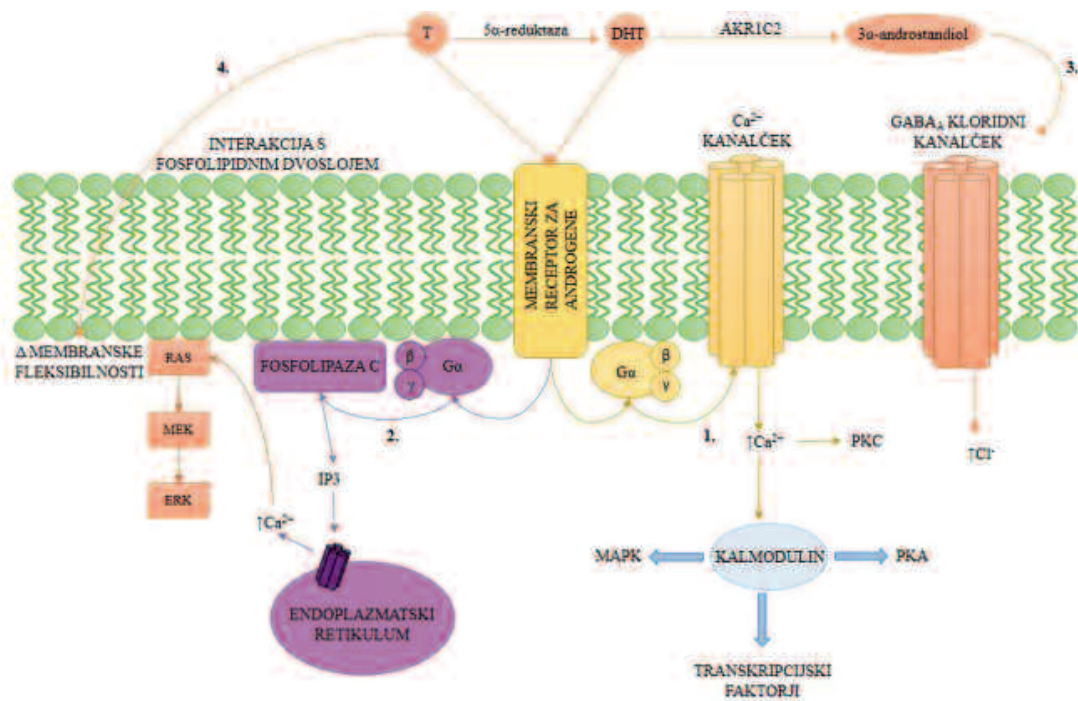
**Slika 4: GENOMSKI MEHANIZMI DELOVANJA ANDROGENOV 1.** Testosteron ali njegov aktivni metabolit dihidrotestosteron lahko prosto prehajata skozi celično membrano in se vežeta na receptor za androgene v citoplazmi. Po vezavi androgena na receptor za androgene potečejo disociacija proteinov toplotnega šoka, dimerizacija in translokacija v jedro. Nastali dimer se veže na hormonsko odzivni element na DNA, sledi vezava koaktivatorjev ali korepresorjev, ki tako uravnava izražanje tarčnih genov. Povečana aktivacija transkripcije se odraža v povečani količini mRNA in sintezi specifičnih proteinov (17). 2. Po vezavi androgena na receptor za androgene lahko nastali kompleks interagira z SH3 domeno tirozin-kinaze c-Src in tako aktivira z mitogenom aktivirano protein-kinazno pot (prirejeno po (61)). AR - receptor za androgene; DHT - dihidrotestosteron; HSP - proteini toplotnega šoka; MAPK - z mitogenom aktivirana protein-kinaza; T - testosteron.

**Figure 4: GENOMIC ACTIONS OF ANDROGENS 1.** Testosterone and its active metabolite dihydrotestosterone can diffuse through the membrane and can bind to cytosolic androgen receptor, which leads to dissociation of heat shock proteins, formation of a dimer and translocation to the nucleus. The dimer then binds to hormone responsive elements on DNA, recruits cofactors and regulates gene transcription. Increased activation of transcription results in an increase of mRNA and the synthesis of specific proteins (17). 2. The dimer can also interact with SH3 domain of the tyrosine kinase c-Src and can thus activate mitogen-activated protein kinase pathway (adapted from (61)). AR - androgen receptor; DHT - dihydrotestosterone; HSP - heat shock proteins; MAPK - mitogen-activated protein kinase; T - testosterone.

struacijskega cikla. Največje tkivne koncentracije androgenov, predvsem testosterona in androstendiona, so opazili na sredini menstruacijskega cikla, med ovulacijo (22). Z imunohistokemijskim barvanjem so preverili tudi izražanje receptorja za androgene v endometriju in opazili njegovo visoko raven med proliferativno fazo in nizko raven med sekretorno fazo menstruacijskega cikla (23). Tovrstne raziskave torej kažejo, da se tako koncentracije androgenov kot tudi izražanje receptorja za androgene ciklično spreminjajo, vendar vloga androgenov v menstruacijskem ciklu še ni dovolj pojasnjena.

Spremembe v koncentracijah androgenov v krvi pri ženskah povezujejo tudi s številnimi boleznimi, kot sta na primer de-

presija in Alzheimerjeva bolezen, ter stanji, na primer s spolno močjo in splošno telesno zmogljivostjo. Zmanjšane koncentracije testosterona pri ženskah povezujejo s povečano dovzetnostjo za zlome kosti, medtem ko povečane koncentracije povezujejo z zmanjšano odpornostjo na inzulin in z večjim tveganjem za razvoj bolezni srca in ožilja (24). Androgeni so povezani tudi s sindromom policističnih jajčnikov, pri čemer povečana sinteza in/ali občutljivost na androgene vodi v hirsutizem (25). Avstralska populacijska raziskava je pokazala, da imajo bolnice s sindromom policističnih jajčnikov štirikrat večje tveganje za razvoj raka endometrija v primerjavi z zdravimi ženskami (26). Pri ženskah androgene povezujejo tudi z rakom dojke in rakom endometrija (24, 27).



**Slika 5: NEGENOMSKI MEHANIZMI DELOVANJA ANDROGENOV** 1. Vezava androgena na membranski receptor za androgene, sklopljen z G-proteini, vodi v aktivacijo kalcijevega kanalčka. Povečanje znotrajcelične koncentracije kalcija lahko aktivira protein-kinazo C, prek kalmodulina pa protein-kinazo A in z mitogenom aktivirano protein-kinazno pot ter tako prek fosforilacije vpliva na gensko transkripcijo. 2. Androgeni po vezavi in aktivaciji membranskega receptorja za androgene lahko vplivajo na aktivnost fosfolipaze C. Povečanje znotrajcelične koncentracije inozitol trifosfata vodi v sprostitvev znotrajceličnih zalog kalcija iz endoplazemskega retikuluma in aktivacijo poti RAS/MEK/ERK. 3. Dihidrotestosteron se lahko s pomočjo aldo-keto reduktaze 1C2 reducira v 3 $\alpha$ -androstandiol, ki lahko interagira z receptorjem  $\gamma$ -maslene kisline in tako poveča vnos kloridnih ionov v celico ter vpliva na membranski potencial. 4. Androgeni so lipofilne molekule, interagirajo s fosfolipidnim dvoslojem in vplivajo na fleksibilnost celične membrane ter posledično tudi na aktivnost Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ter Ca<sup>2+</sup> ATPaze (prirejeno po (61)). AKR1C2 - alko-keto reduktaza; DHT - dihidrotestosteron; ERK - z zunajceličnimi signali uravnana kinaza; GABA -  $\gamma$ -maslena kislina; IP3 - inozitol trifosfat; MAPK - z mitogenom aktivirana protein-kinaza; MEK - z mitogenom aktivirana protein-kinaza; PKA - protein-kinaza A; PKC - protein-kinaza C; RAS - GTPaza; T - testosteron.

**Figure 5: NON-GENOMIC ACTIONS OF ANDROGENS** 1. Androgens can bind to G-protein coupled membrane androgen receptor, which leads to activation of a calcium channel. An increase in intracellular calcium can activate protein kinase C and through calmodulin can activate protein kinase A and mitogen-activated protein kinase, and can further modulate gene transcription. 2. The activation of membrane androgen receptor can also affect the activity of phospholipase C. Increase in inositol trisphosphate leads to intracellular release of calcium from the endoplasmic reticulum and activation of mitogen-activated/extracellular signal-regulated kinase pathway. 3. Aldo-keto reductase 1C2 catalyses the reduction of dihydrotestosterone to 3 $\alpha$ -androstandiol which can interact with  $\gamma$ -aminobutyric acid receptor and can thus increase the influx of chloride ions and affect the membrane potential. 4. Androgens are lipophilic and can therefore interact with lipid bilayer, which affects membrane fluidity and also the activity of sodium/potassium and calcium ATPase (adapted from (61)). AKR1C2 - aldo-keto reductase; DHT - dihydrotestosterone; ERK - extracellular signal-regulated kinase; GABA -  $\gamma$ -aminobutyric acid; IP3 - inositol trisphosphate; MAPK - mitogen-activated protein kinase; MEK - mitogen-activated protein kinase kinase; PKA - protein kinase A; PKC - protein kinase C; RAS - GTPase; T - testosterone.

## 4 VLOGA ANDROGENOV PRI RAKU ENDOMETRIJA

V tkivu endometrija so dokazali pretvorbo dehidroepiandrosterona sulfata v dehidroepiandrosteron, androstendion,

testosteron in dihidrotestosteron, kar potrjuje lokalno sintezo aktivnih androgenov v tem perifernem tkivu (28). Testosteron in androstendion sta substrata aromataze, ki katalizira njuno pretvorbo v estradiol in estron (29, 30). Androgeni so torej izhodne spojine v sintezi mitogenih estrogenov, tudi sami pa imajo pomembno vlogo v patofiziologiji raka endometrija. Spremenjeno patofiziološko sta-

Preglednica 2: Serumske koncentracije androgenov pri ženskah pred menopavzo in po njej (prirejeno po (21)).

Steroidi	Pred menopavzo povprečna srednja vrednost $\pm$ SD	Po menopavzi povprečna srednja vrednost $\pm$ SD
Dehidroepiandrosteron sulfat	3,44 $\pm$ 1,68 $\mu$ M	1,60 $\pm$ 0,98 $\mu$ M
Dehidroepiandrosteron	15,50 $\pm$ 7,59 nM	6,76 $\pm$ 4,09 nM
Androstendion	3,35 $\pm$ 1,22 nM	1,39 $\pm$ 0,63 nM
Testosteron	0,62 $\pm$ 0,24 nM	0,49 $\pm$ 0,24 nM
Dihidrotestosteron	241,05 $\pm$ 103,31 pM	137,74 $\pm$ 103,31 pM

nje namreč lahko vpliva na izražanje genov, ki kodirajo encime biosinteze in metabolizma androgenov, in tako posledično vpliva tudi na obseg učinkov androgenov (8). Kljub temu, da so pri raku endometrija do sedaj proučevali predvsem metabolizem estrogenov, raziskovalci v zadnjih letih vse več pozornosti posvečajo tudi vlogi androgenov (slika 3).

#### 4.1. POVEZAVA MED ANDROGENI IN RAKOM ENDOMETRIJA

Rak endometrija je značilen predvsem za ženske po menopavzi, torej v obdobju, ko so koncentracije estrogenov v krvi zmanjšane, medtem ko raven testosterona v krvi ostane dalj časa nespremenjena (31). Aktivni androgeni se v menopavzi sintetizirajo predvsem lokalno, v perifernih tarčnih tkivih, tudi v endometriju in maščevju (slika 3) (32). Maščevje je v tem življenjskem obdobju primarni vir sinteze estrogenov in androgenov (33). Pred leti so določevali serumske koncentracije androgenov pri ženskah z normalnim menstruacijskim ciklom in ekstremno povečanim indeksom telesne mase (ITM). Ugotovili so, da je bila koncentracija testosterona in dihidrotestosterona pri teh ženskah dvakrat večja v primerjavi s kontrolno skupino žensk, prav tako je bila povečana tudi konjugacija androgenov. Kljub povečanemu očistku androgenov povečana serumska koncentracija androgenov nakazuje, da je debelost hiperandrogeno stanje (34). Raziskava EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*), ki je zajela 233 bolnic z rakom endometrija in 446 bolnic kontrolne skupine, je povezavo med androgeni in debelostjo potrdila, saj je pokazala, da so večje serumske koncentracije testosterona povezane s povečanim ITM. Pri ženskah po menopavzi pa je bil povečan ITM povezan s povečanim tveganjem za razvoj raka endometrija (35).

Tudi druge epidemiološke raziskave nakazujejo povezavo med androgeni in rakom endometrija. Kaaks je leta 2002 s sodelavci pregledal vrsto raziskav o vplivu androgenov na razvoj raka endometrija in ugotovil, da je tveganje pri ženskah pred menopavzo in po njej povezano s povečano serumsko koncentracijo testosterona in androstendiona (36). V večini teh raziskav so koncentracije steroidnih hormonov določali z imunološkimi metodami (RIA, LIA), ki so omejene s specifičnostjo protiteles in pogosto ne omogočajo prepoznavanja med posameznimi stereoisomeri. Imunološke metode sta v zadnjem desetletju nadomestili plinska in tekočinska kromatografija, sklopljeni s tandemsko masno spektrometrijo (GC-MS/MS ali LC-MS/MS), ki predstavljata zlati standard določanja koncentracije steroidnih hormonov (37). Mnoge novejšje raziskave potrjujejo, da so povečane serumske koncentracije androgenov povezane s povišanim tveganjem za razvoj raka endometrija (27, 35, 38). Rezultati nedavne raziskave pa razkrivajo, da je povezava med krvnimi koncentracijami testosterona in tveganjem za rak endometrija značilna samo za ženske po menopavzi (39). Skupina Audet-Walsh s sodelavci je pred kratkim z LC-MS/MS določila serumske koncentracije 18 steroidov in ugotovila, da so koncentracije dehidroepiandrosteron sulfata, dehidroepiandrosterona, androstendiona, testosterona in dihidrotestosterona značilno povečane pri bolnicah z rakom endometrija v primerjavi s kontrolno skupino bolnic (38). Epidemiološke raziskave, izvedene z ustreznimi metodološkimi pristopi, torej potrjujejo, da so povečane koncentracije androgenov povezane s povečanim tveganjem za razvoj raka endometrija.

Povezavo androgenov z rakom endometrija so proučevali tudi na ravni tkiva. Naša skupina je pokazala, da je v tkivu raka endometrija prisotna  $17\beta$ -hidroksisteroid-dehidrogenaza tipa 5, poznana tudi kot AKR1C3, ki katalizira reduk-

cijo androstendiona v biološko bolj aktiven testosteron (40). Ito s sodelavci je z imunohistološkim barvanjem pokazal, da sta v rakavem tkivu endometrija prisotni tudi 5 $\alpha$ -reduktaza tipov 1 in 2, ki pretvorita testosteron v najaktivnejši androgen dihidrotestosteron (41). Pred kratkim je ista skupina ugotovila, da so njune koncentracije večje v rakavem endometrijskem tkivu v primerjavi z normalnim endometrijskim tkivom, čeprav te razlike niso bile statistično značilne (42). Odsotnost receptorja za androgene in 5 $\alpha$ -reduktaze tipa 1 v rakavem tkivu bolnic je bila v tem primeru povezana z najslabšo prognozo bolnic.

Androgeni, ki se sintetizirajo v samem tkivu endometrija, delujejo predvsem prek receptorjev za androgene. Ti so v endometriju izraženi med celotnim menstruacijskim ciklom (23, 43). Raziskav, ki bi kazale neposredno povezavo med receptorjem in rakom endometrija, pa je malo. S pozitivno imunohistokemijsko reakcijo so dokazali njegovo prisotnost pri endometriodnih adenokarcinomih stadijev I in II (23, 44). Ugotovili so, da pri napredovanih oblikah raka in pri slabo diferenciranih oblikah receptor za androgene ni prisoten (45). Nedavna raziskava je razkrila, da je receptor za androgene bolj izražen v endometriju po menopavzi, njegovo izražanje pa je sovpadalo z zmanjšano proliferacijo. Tudi v tej raziskavi so ugotovili, da receptor za androgene pri bolj agresivnih oblikah raka endometrija ni prisoten, njegova odsotnost pa je bila povezana tudi z značilno krajšim obdobjem brez bolezni (46, 47). Pri raku endometrija so proučevali tudi najbolj raziskan polimorfizem receptorja za androgene. Gre za ponavljajočo se sekvenco CAG v delu gena, ki kodira N-terminalno domeno (48). Večje število ponovitev CAG in GGN v tej domeni so povezali z manjšo aktivacijsko sposobnostjo receptorja za androgene in z napredovanim stadijem raka endometrija (49). Rak endometrija so povezali tudi z epigenetskimi spremembami, kot je na primer hipermetilacija otočkov CpG gena *AR*, ki vodi v njegovo zmanjšano izražanje (50).

## 4.2. ZAŠČITNA VLOGA ANDROGENOV PRI RAZVOJU RAKA ENDOMETRIJA

Kljub povezavi povečanih serumskih koncentracij androgenov s povečano pojavnostjo raka endometrija zgoraj navedene raziskave kažejo, da imajo androgeni v rakavem tkivu najverjetneje zaščitno vlogo, in tako receptor za androgene predstavlja možno tarčo za zdravljenje raka endometrija. V skladu s temi rezultati so že pred 20 leti na celični liniji raka endometrija MFE-296 pokazali, da vezava dihidrotestosterona na receptor zavira proliferacijo teh celic (51, 52). Te rezultate potrjuje tudi raziskava uporabe androgenov pri ženskah po menopavzi, ki je pokazala, da testosteron undekanoat ne stimulira samega endometrijskega tkiva in celo zmanjša proliferativni učinek estradiol valerata (53). Zaščitno vlogo androgenov podpirajo tudi primeri uporabe nadfizioloških koncentracij testosterona pri menjavi spola, ki so vodili v atrofijo endometrija (54), in uporaba dehidroepiandrosterona za blaženje simptomov menopavze z opaženo atrofijo endometrija po 52 tednih uporabe (55).

Mehanizme zaščitnega delovanja androgenov so delno razkrile raziskave s celičnimi kulturami. V primarnih endometrijskih stromalnih celicah je dihidrotestosteron z aktivacijo receptorja vplival na izražanje genov, ki so udeleženi pri proliferaciji, migraciji in celičnem preživetju. Gre torej za procese, ki so v tumorskem tkivu največkrat spremenjeni in kažejo na povezavo med androgeni ter malignimi obolenji (23). Zanimiv je primer ciklina D1 (*CCND1*), ki je bil manj izražen ob prisotnosti dihidrotestosterona. Ciklin D1 je pomemben predvsem pri uravnavanju celičnega cikla. Povečano izražanje ciklina D1 so povezali s številnimi vrstami raka, tudi z rakom endometrija (56). Povezavo med ciklinom D1 in rakom endometrija pojasnjuje tudi raziskava vpliva tamoksifena na epiteljsko celično linijo Ishikawa, ki izvira iz delno diferenciranega endometrioidnega adenokarcinoma gradusa II (57).

Uporaba tamoksifena, sinteznega selektivnega modulatorja receptorjev za estrogene, je namreč povezana s povišanim tveganjem za razvoj raka endometrija (58). Tamoksifen je v celični liniji Ishikawa statistično značilno povečal izražanje gena *CCND1* (59) in tako omogočil prehod iz faze G1 v fazo S. Povezavo med androgeni in ciklinom D1 pa so dokazali v modelni celični liniji raka dojke, v kateri je vezava dihidrotestosterona na receptor za androgene preprečila izražanje gena *CCND1* in posledično sintezo ciklina D1 (60). Povezavo med večjimi serumskimi koncentracijami androgenov in pojavnostjo raka endometrija bi lahko delno razložili z vlogo androgenov kot izhodnih spojin v sintezi estrogenov. Seveda pa lahko androgeni delujejo tudi z aktivacijo znotrajceličnih signalnih poti prek membranskih z G-proteini sklopljenih receptorjev ali z aktivacijo tirozin-kinaze c-Src, vendar ti negenomske mehanizmi delovanja androgenov pri raku endometrija še niso raziskani.

## 5 ZAKLJUČEK

Mnoge raziskave potrjujejo, da obstaja povezava med androgeni in rakom endometrija, vendar vloga androgenov pri tem še ni povsem raziskana. Epidemiološke raziskave kažejo povezavo med povečanimi serumskimi koncentracijami androgenov in povečano pojavnostjo raka endometrija.

cijami androgenov in tveganjem za razvoj raka, medtem ko raziskave na modelnih celičnih linijah raka endometrija in na vzorcih tkiva nakazujejo, da imajo androgeni zaščitno vlogo. Potrebne so nadaljnje raziskave, ki bodo z uporabo ustreznih modelnih celičnih linij in z raziskavami na vzorcih tkiva razjasnile genomske in negenomske učinke androgenov ter tako natančno opredelile vlogo androgenov pri raku endometrija. Ali se v razvoj raka endometrija vpleta tudi aktivacija membranskega receptorja za androgene in posledičen vpliv na znotrajcelično homeostazo kalcija in številne druge signalne poti? Ali pa so androgeni zgolj izhodne spojine za sintezo estrogenov? Vlogo androgenov pri raku endometrija bo torej treba še dodobra proučiti, kar pa bo zagotovo odprlo pot možnim novim pristopom zdravljenja.

## 6 LITERATURA

1. Inštitut O. Register raka RS 2012. Dostop: 3-8-2016.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136(5): E359-386.
3. Sonoda Y, Barakat RR. Screening and the prevention of gynecologic cancer: endometrial cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2006; 20(2): 363-377.
4. Meyer LA, Broaddus RR, Lu KH. Endometrial cancer and Lynch syndrome: clinical and pathologic considerations. *Cancer Control* 2009; 16(1): 14-22.
5. Kandath C, Schultz N, Cherniack AD et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 2013; 497(7447): 67-73.
6. Schindler AE. Progestogen deficiency and endometrial cancer risk. *Maturitas* 2009; 62(4): 334-337.
7. Key TJ, Pike MC. The dose-effect relationship between 'unopposed' oestrogens and endometrial mitotic rate: its central role in explaining and predicting endometrial cancer risk. *Br J Cancer* 1988; 57(2): 205-212.
8. Gibson DA, Simitsidellis I, Collins F et al. Evidence of androgen action in endometrial and ovarian cancers. *Endocr Relat Cancer* 2014; 21(4): T203-218.
9. Ortsäter H, Sjöholm AK, Rafacho A. Regulation of Glucocorticoid Receptor Signaling and the Diabetogenic Effects of Glucocorticoid Excess. In: Magdeldin S. State of the Art of Therapeutic Endocrinology. *InTech* 2012; 1-28.
10. Ota T, Doi M, Yamazaki F et al. Angiotensin II triggers expression of the adrenal gland zona glomerulosa-specific 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase isoenzyme through de novo protein synthesis of the orphan nuclear receptors NGFIIB and NURR1. *Mol Cell Biol* 2014; 34(20): 3880-3894.
11. Young JM, McNeilly AS. Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction* 2010; 140(4): 489-504.
12. Labrie F, Luu-The V, Lin SX et al. Role of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid formation in peripheral intracrine tissues. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11(10): 421-427.
13. Avancès C, Georget V, Térouanne B et al. Human prostatic cell line PNT1A, a useful tool for studying androgen receptor transcriptional activity and its differential subnuclear localization in the presence of androgens and antiandrogens. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 184(1-2): 13-24.
14. Chang C, Saltzman A, Yeh S et al. Androgen receptor: an overview. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1995; 5(2): 97-125.
15. Gelmann EP. Molecular biology of the androgen receptor. *J Clin Oncol* 2002; 20(13): 3001-3015.
16. Wilson CM, McPhaul MJ. A and B forms of the androgen receptor are present in human genital skin fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(4): 1234-1238.
17. Rahmani AH, Alzohairy M, Babiker AY et al. Implication of androgen receptor in urinary bladder cancer: a critical mini review. *Int J Mol Epidemiol Genet* 2013; 4(3): 150-155.
18. Horie K, Takakura K, Imai K et al. Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human endometrium, decidua, placenta and pathological conditions of the endometrium. *Hum Reprod* 1992; 7(10): 1461-1466.
19. Prodi G, Nicoletti G, De Giovanni C et al. Multiple steroid hormone receptors in normal and abnormal human endometrium. *J Cancer Res Clin Oncol* 1980; 98(2): 173-183.
20. Mertens HJ, Heineman MJ, Koudstaal J et al. Androgen receptor content in human endometrium. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996; 70(1): 11-13.
21. Labrie F, Bélanger A, Bélanger P et al. Androgen glucuronides, instead of testosterone, as the new markers of androgenic activity in women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 99(4-5): 182-188.
22. Cloke B, Christian M. The role of androgens and the androgen receptor in cycling endometrium. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 358(2): 166-175.
23. Marshall E, Lowrey J, MacPherson S et al. In silico analysis identifies a novel role for androgens in the regulation of human endometrial apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(11): E1746-1755.
24. Matysiak ZE, Ochędalski T, Piastowska-Ciesielska AW. The evaluation of involvement of angiotensin II, its receptors, and androgen receptor in endometrial cancer. *Gynecol Endocrinol* 2015; 31(1): 1-6.
25. Azziz R, Carmina E, Dewailly D et al. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(11): 4237-4245.
26. Fearnley EJ, Marquart L, Spurdle AB et al. Polycystic ovary syndrome increases the risk of endometrial cancer in women aged less than 50 years: an Australian case-control study. *Cancer Causes Control* 2010; 21(12): 2303-2308.
27. Lukanova A, Lundin E, Micheli A et al. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of endometrial cancer in postmenopausal women. *Int J Cancer* 2004; 108(3): 425-432.
28. Hausknecht V, Lopez de la Osa E, Gurrpide E. In vitro metabolism of C19 steroids in human endometrium. *J Steroid Biochem* 1982; 17(6): 621-629.
29. Bulun SE, Lin Z, Imir G et al. Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: from bench to treatment. *Pharmacol Rev* 2005; 57(3): 359-383.
30. Simpson ER, Zhao Y, Agarwal VR et al. Aromatase expression in health and disease. *Recent Prog Horm Res* 1997; 52: 185-213.
31. Burger HG, Dudley EC, Cui J et al. A prospective longitudinal study of serum testosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and sex hormone-binding globulin levels through the



- menopause transition. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(8): 2832-2838.
32. Ito K, Miki Y, Suzuki T et al. In situ androgen and estrogen biosynthesis in endometrial cancer: focus on androgen actions and intratumoral production. *Endocr Relat Cancer* 2016; 23(7): R323-335.
  33. Sivridis E, Giatromanolaki A. The pathogenesis of endometrial carcinomas at menopause: facts and figures. *J Clin Pathol* 2011; 64(7): 553-560.
  34. Samojlik E, Kirschner MA, Silber D et al. Elevated production and metabolic clearance rates of androgens in morbidly obese women. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59(5): 949-954.
  35. Allen NE, Key TJ, Dossus L et al. Endogenous sex hormones and endometrial cancer risk in women in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Endocr Relat Cancer* 2008; 15(2): 485-497.
  36. Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11(12): 1531-1543.
  37. Auchus RJ. Steroid assays and endocrinology: best practices for basic scientists. *Endocrinology* 2014; 155(6): 2049-2051.
  38. Audet-Walsh E, Lépine J, Grégoire J et al. Profiling of endogenous estrogens, their precursors, and metabolites in endometrial cancer patients: association with risk and relationship to clinical characteristics. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(2): E330-339.
  39. Clendenen TV, Hertzmark K, Koenig KL et al. Premenopausal Circulating Androgens and Risk of Endometrial Cancer: results of a Prospective Study. *Horm Cancer* 2016; 7(3): 178-187.
  40. Rizner TL, Smuc T, Ruprecht R et al. AKR1C1 and AKR1C3 may determine progesterone and estrogen ratios in endometrial cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 248(1-2): 126-135.
  41. Ito K, Suzuki T, Akahira J et al. Expression of androgen receptor and 5alpha-reductases in the human normal endometrium and its disorders. *Int J Cancer* 2002; 99(5): 652-657.
  42. Tanaka S, Miki Y, Hashimoto C et al. The role of 5alpha-reductase type 1 associated with intratumoral dihydrotestosterone concentrations in human endometrial carcinoma. *Mol Cell Endocrinol* 2015; 401: 56-64.
  43. Apparao KB, Lovely LP, Gui Y et al. Elevated endometrial androgen receptor expression in women with polycystic ovarian syndrome. *Biol Reprod* 2002; 66(2): 297-304.
  44. Horie K, Takakura K, Fujiwara H et al. Immunohistochemical localization of androgen receptor in the human ovary throughout the menstrual cycle in relation to oestrogen and progesterone receptor expression. *Hum Reprod* 1992; 7(2): 184-190.
  45. Kato J, Seto T. Correlation of androgen receptors with histological differentiation in human endometrial carcinomas. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1985; 64(3): 209-212.
  46. Kamal AM, Bulmer JN, DeCruze SB et al. Androgen receptors are acquired by healthy postmenopausal endometrial epithelium and their subsequent loss in endometrial cancer is associated with poor survival. *Br J Cancer* 2016; 114(6): 688-696.
  47. Kamal A, Tempest N, Parkes C et al. Hormones and endometrial carcinogenesis. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2016; 25(2): 129-148.
  48. La Spada AR, Wilson EM, Lubahn DB et al. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature* 1991; 352(6330): 77-79.
  49. Rodríguez G, Bilbao C, Ramírez R et al. Alleles with short CAG and GGN repeats in the androgen receptor gene are associated with benign endometrial cancer. *Int J Cancer* 2006; 118(6): 1420-1425.
  50. Sasaki M, Oh BR, Dharia A et al. Inactivation of the human androgen receptor gene is associated with CpG hypermethylation in uterine endometrial cancer. *Mol Carcinog* 2000; 29(2): 59-66.
  51. Hackenberg R, Schulz KD. Androgen receptor mediated growth control of breast cancer and endometrial cancer modulated by antiandrogen- and androgen-like steroids. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 56(1-6 Spec No): 113-117.
  52. Hackenberg R, Beck S, Filmer A et al. Androgen responsiveness of the new human endometrial cancer cell line MFE-296. *Int J Cancer* 1994; 57(1): 117-122.
  53. Zang H, Sahlín L, Masironi B et al. Effects of testosterone treatment on endometrial proliferation in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(6): 2169-2175.
  54. Perrone AM, Cerpolini S, Maria Salfi NC et al. Effect of long-term testosterone administration on the endometrium of female-to-male (FtM) transsexuals. *J Sex Med* 2009; 6(11): 3193-3200.
  55. Portman DJ, Labrie F, Archer DF et al. Lack of effect of intravaginal dehydroepiandrosterone (DHEA, prasterone) on the endometrium in postmenopausal women. *Menopause* 2015; 22(12): 1289-1295.
  56. Moreno-Bueno G, Rodríguez-Perales S, Sánchez-Estévez C et al. Cyclin D1 gene (CCND1) mutations in endometrial cancer. *Oncogene* 2003; 22(38): 6115-6118.
  57. Nishida M, Kasahara K, Oki A et al. Establishment of eighteen clones of Ishikawa cells. *Hum Cell* 1996; 9(2): 109-116.
  58. Swerdlow AJ, Jones ME, Group BTSCS. Tamoxifen treatment for breast cancer and risk of endometrial cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(5): 375-384.
  59. Tamm-Rosenstein K, Simm J, Suhorutshenko M et al. Changes in the transcriptome of the human endometrial Ishikawa cancer cell line induced by estrogen, progesterone, tamoxifen, and mifepristone (RU486) as detected by RNA-sequencing. *PLoS One* 2013; 8(7): e68907.
  60. Lanzino M, Sisci D, Morelli C et al. Inhibition of cyclin D1 expression by androgen receptor in breast cancer cells--identification of a novel androgen response element. *Nucleic Acids Res* 2010; 38(16): 5351-5365.
  61. Foradori CD, Weiser MJ, Handa RJ. Non-genomic actions of androgens. *Front Neuroendocrinol* 2008; 29(2): 169-181.



# NOVI DOKTORJI ZNANOSTI

## NEW DOCTORS OF SCIENCE

UREDILI / EDITED BY:

Mateja Terčič, univ. dipl. sociol.  
doc. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

**Grega Hudovornik, mag. farm.**

### OPTIMIZACIJA IZDELAVE FILMSKO OBLOŽENIH PELET V ZVRTINČENIH PLASTEH S POMOČJO »IN-LINE« TEHNIK

Mentor: prof. dr. Franc Vrečer

Doktorska disertacija Grege Hudovornika sodi na področje farmacevtske tehnologije. V svojem raziskovalnem delu je doktorand proučeval uporabnost dveh procesno analiznih tehnologij, bližnje infrardeče spektroskopije (NIR) in tehnike modificiranega prostorskega filtra (SFT), pri vrednotenju izbranih kritičnih lastnosti filmsko obloženih pelet med procesom izdelave. Raziskave je izvajal na realnih procesih, kjer je zelo težko proučevati izolirani vpliv posameznega procesnega parametra.

Doktorand je svojo nalogo razdelil v več poglavij. V svojem eksperimentalnem delu se je v prvem delu naloge posvetil študiju temperiranja filmsko obloženih pelet, ki predstavlja pomembno fazo oblaganja trdnih farmacevtskih oblik, zlasti v primeru oblaganja s funkcionalnimi oblogami z disperzijami na vodni osnovi. V tej fazi prihaja do koalescence polimernih verig v oblogi in s tem stabilizacije njenih lastnosti. Na osnovi eksperimentalnega dela je proučil vpliv procesnih

parametrov temperiranja in določil njihove optimalne vrednosti ter odstop posameznih rezultatov od pričakovani znanstveno razložil. Potek temperiranja je spremljal z NIR spektroskopijo in poskušal modelirati profile sproščanja v odvisnosti od pogojev temperiranja, kar predstavlja novost na raziskovalnem področju.

V drugem delu naloge je proučeval možnosti spremljanja in vodenja procesa oblaganja pelet z *in line* tehnikami NIR in SFT, pri čemer je pri prvi tehniki dokazal njeno uporabnost za vrednotenje vsebnosti vlage v produktu. Razviti model je bil robusten in uporaben tudi pri kvalitativno spremerjeni sestavi filmske obloge. Dodatno je ugotovil, da lahko obe proučevani *in-line* tehniki uporabimo tudi za detekcijo neželenega kršenja pelet pri oblaganju kot posledico neustreznih procesnih parametrov, kar je zaradi pomena za kakovost produkta in hitro detekcijo pojava pomembno v industrijskih procesih oblaganja pelet. Z novim pristopom, pri katerem je vrednosti, pridobljene s SFT tehniko, uporabil za razvoj NIR modela, je uspešno razvil model za napovedovanje debeline obloge, kar ima velik aplikativni pomen za optimizacijo postopkov oblaganja v industrijskem merilu. Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je objavil v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah z dejavnikom vpliva in predstavil na mednarodnih znanstvenih konferencah.

**Polona Bukovec, mag. farm.**

### ŠTUDIJ VPLIVA ZGRADBE IN OBLIKE KRISTALOV NA FIZIKALNO-KEMIJSKE LASTNOSTI ZDRAVILNIH UČINKOVIN

Mentor: prof. dr. Franc Vrečer

Doktorska disertacija Polone Bukovec sodi na področje farmacevtske tehnologije. Doktorandka je v svojem doktorskem delu raziskovala vpliv lastnosti posameznih kristalnih ploskev modelne zdravilne učinkovine oz. oblike kristalov na lastnosti posameznih kristalov in *bulk* prahov, ki so pomembne v oblikovanju trdnih farmacevtskih oblik in njihovih lastnosti.

Za izhodišče svojega raziskovalnega dela je uporabila simvastatin, pri katerem je zaradi njegovih slabe topnosti in hidrofobnosti prisotna možnost izboljšanja njegovih biofarmaceutskih lastnosti z manipulacijo oblike delcev, ki bi vodila v njihovo večjo hidrofilnost.

S kristalizacijo simvastatina iz kombinacij topil z različno polarnostjo je uspela pridobiti kristale, ki so se razlikovali samo v svojih obliki in relativnih velikostih posameznih kristalnih



ploskev in so hkrati izkazovali različne hitrosti raztapljanja. Ugotovila je, da imajo kristali, izolirani iz kombinacije topil z večjo polarnostjo, bolj izražene polarne kristalne ploskve, posebej ploskev (011), in so v paličasti obliki. Nasprotno je bila pri ploščatih kristalih najizrazitejša ploskev (001), ki ima bolj hidrofoben karakter. Te lastnosti posameznih kristalnih ploskev, ugotovljene na nanometrski ravni, je uspešno povezala z makroskopskim in biofarmacevtsko relevantnim parametrom intrinzične hitrosti raztapljanja. Z inovativnim pristopom študija mehanskih lastnosti posameznih kristalnih ploskev obeh tipov kristalov je določila tudi mehanske lastnosti izbranih kristalnih ploskev in jih povezala s strukturno urejenostjo molekul simvastatina v kristalu, kar je pomembno za njihovo procesibilnost v procesu stiskanja tablet in relativno hitrost raztapljanja izbranih kristalnih ploskev.

Rezultate svojega raziskovalnega dela je doktorandka objavila v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah z dejavnikom vpliva. Njeni rezultati, ki predstavljajo svojski in redko uporabljen pristop k solubilizaciji slabo topnih zdravilnih učinkovin, ter njeni raziskovalni pristopi pa so oz. bodo uporabljeni tudi v razvojnem delu v podjetju KRKA, d. d., Novo mesto.

*Jure Borišek, mag. farm.*

## NAČRTOVANJE ZAVIRALCEV KATEPSINA K IN AVTOLIZINA S POMOČJO PRISTOPOV KEMOMETRIJE IN STRUKTURNO PODPRTEGA NAČRTOVANJA

Mentorica: izr. prof. dr. Marjana Novič

Somentorica: izr. prof. dr. Anamarija Zega

Jure Borišek je v doktorskem delu prikazal inovativen pristop k načrtovanju encimskih zaviralcev. Delo je opravil v dveh sklopih, v prvem je bil tarčni protein katepsin K, lizosomska proteaza, ki igra pomembno vlogo pri nekaterih boleznih, zlasti pri osteoporozi, v drugem pa avtolizina E, ki je peptidoglikanska hidrolaza bakterijskega seva *Staphylococcus aureus*.

Najprej je s pomočjo opisa kemijske strukture zaviralcev katepsina K v kompleksu ligand-encim dobil mehanistično sliko delovanja učinkovine in s tem omogočil optimizacijo zaviralcev z namenom zmanjševanja neželenih učinkov. Nato je z uporabo virtualne kombinatorične knjižnice, modeliranja odnosov med strukturo in delovanjem ter molekulskega sidranja razvili novo serijo zaviralcev katepsina

K, katerih struktura temelji na balikatibu sorodnem skeletu. Da bi zmanjšal neželene učinke, poznane pri balikatibu, je na pozicijo P3 vključil šibko bazični oziroma nebazični strukturni fragment. Tri sintetizirane spojine so bile visoko-selektivne za katepsin K v primerjavi s katepsini L in S z vrednostmi konstante inhibicije v območju 10-30 nM. Kinetične študije so pokazale, da imajo novi zaviralci tesen in reverzibilen način vezave na katepsin K, medtem ko so X-žarkovne strukturne študije razkrile tako kovalenten kot tudi nekovalenten način vezave med nitrilno skupino zaviralcev in katalitičnim cisteinom Cys25.

V drugem sklopu raziskav se je Jure Borišek posvetil iskanju novih potencialnih zaviralcev avtolizina E, ki predstavlja novo tarčo protimikrobnih učinkovin. Kot izhodišče pri načrtovanju potencialnih zaviralcev avtolizina E je uporabil še neobjavljeno kristalno strukturo z vezanim ligandom sladkorja. S podobnim pristopom kot v prvem sklopu raziskav, vendar brez poznavanja kakršnih koli zaviralcev (to imenujemo *de novo design*), je identificiral obetavne potencialne zaviralce ter ovrednotil njihovo vezavo – najboljši so bili v nizkem mikromolarnem območju. Te spojine predstavljajo odlično izhodišče za nadaljnjo optimizacijo in potencialni razvoj novega razreda protimikrobnih učinkovin.

*Marko Jukić, mag. farm.*

## UPORABA NARAVNIH SPOJIN VODNIC TER IN SILICO PODPRTO REŠETANJE KEMIJSKIH KNJIŽNIC PRI NAČRTOVANJU IN SINTEZI NOVIH PROTIBAKTERIJSKIH UČINKOVIN IN MODULATORJEV IONSKIH KANALČKOV

Mentor: izr. prof. dr. Marko Anderluh

Marko Jukić je opravil raziskave s področja Farmacevtske kemije kot del podiplomskega študija Biomedicine, področja Farmacije. Rezultati njegovega dela predstavljajo originalni znanstveni prispevek na področjih modeliranja, načrtovanja, organske sinteze in vrednotenja novih modulatorjev napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov, zaviralcev DNA giraze B in protibakterijskih učinkovin.

Marko Jukić je za načrtovanje strukturnih analogov spojin vodnic iz morskih spužv rodu *Agelas* uporabil klasične far-



macevsko-kemijske pristope kot tudi moderne *in silico* metode virtualne kombinatorične kemije in farmakofornega modeliranja. Na podlagi izračunanih in predvidenih lastnosti je doktorand pripravil usmerjeno knjižnico analogov spojin vodnic. Pripravljene spojine je biološko ovrednotil s celičnimi testi na več tipih napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov s pomočjo partnerjev iz Univerze v Leuvenu (Belgija) in farmacevtskega podjetja Xention (Združeno Kraljestvo). Na osnovi teh izsledkov je identificiral strukturne elemente, odgovorne za delovanje na napetostno odvisnih natrijevih kanalčkih, in pripravil spojine s piperazinskim skeletom, ki so izkazovale zmerno mikromolarno, vendar selektivno delovanje na tip 1.3 napetostno odvisnih natrijevih kanalčkov. Spojini vodnici oroidin in klatrocin iz morskih spužev *Agelas* je Marko Jukič uporabil tudi za načrtovanje zaviralcev DNA giraze B. Z uporabo metod molekulskega sidranja je identificiral tri strukturne razrede potencialnih zaviralcev DNA giraze B, jih pripravil sintezno ter biološko ovrednotil na izoliranem encimu iz bakterijskega seva *Escherichia coli*. Rezultat so bili strukturno novi zaviralci DNA giraze B v nanomolarnem območju konstant zaviranja z razdelanim odnosom med strukturo in delovanjem ter predstavljajo obetavno izhodišče za nadaljnjo optimizacijo in razvoj klinično uporabnih novih protimikrobnih učinkovin. V nasprotju z zaviralci DNA giraze B z znanim mehanizmom delovanja, a odsotnostjo močnega protibakterijskega učinka pa je končni rezultat disertacije tudi serija novih protibakterijskih učinkovin z izotiazolidinonskim skeletom s potrjenim protibakterijskim učinkom.

Še posebej velja izpostaviti znanstveno produktivnost Marka Jukiča. Pretežni del njegovega doktorskega dela je objavljen v publikacijah, do zagovora doktorske disertacije pa je s soavtorji objavil 10 člankov, od tega 9 v revijah z dejavnikom vpliva.

**Daniela Milosheska, mag. farm.**

## KLINIČNA FARMAKOKINETIKA LAMOTRIGINA, OKSKARBAZEPINA IN TOPIRAMATA PRI BOLNIKI Z EPILEPSIJO

Mentor:izr. prof. dr. Iztok Grabnar

Somentor:izr. prof. dr. Tomaž Vovk

Zdravljenje epilepsije je v večini primerov simptomatsko s protiepileptičnimi zdravili. Zaradi narave bolezni je klinično spremljanje učinkovitosti in varnosti zdravljenja težavno. V

pomoč pri načrtovanju odmerjanja so lahko meritve koncentracije zdravilne učinkovine v krvi bolnika.

Doktorandkino delo lahko razdelimo v dva sklopa. V prvem je razvijala analzne metode za terapevtsko spremljanje koncentracij protiepileptičnih zdravil, v drugem pa so podani rezultati dveh kliničnih farmakokinetičnih študij na bolnikih z epilepsijo.

Doktorandka je razvila in validirala dve kromatografski analzni metodi, ki omogočata sočasno določanje 12 protiepileptičnih učinkovin in njihovih metabolitov v krvni plazmi. Poleg tega je razvila metodo, ki omogoča določanje okskarbazepina in karbamazepina ter njenih metabolitov v posušenih krvnih kapljicah. Zaradi zelo majhnega volumna odvzete krvi je ta metoda zelo uporabna za spremljanje terapije pri dojenčkih in otrocih. V klinični raziskavi farmakokinetike lamotrigina je ugotovila, da na hitrost izločanja lamotrigina iz telesa vplivajo genetski dejavniki, telesna masa, ledvična funkcija, kajenje in sočasna uporaba zdravil, ki inducirajo ali inhibirajo presnovo. Z raziskavo farmakokinetike okskarbazepina pri otrocih je razvila model, ki omogoča zdravljenje, prilagojeno posameznemu otroku. Rezultati raziskav doktorskega dela so vidni in so mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz doktorandkine bibliografije, ki obsega tri objavljene in pet v objavo poslanih prispevkov v revije z dejavnikom vpliva.

Raziskovala je tudi androgeno in glukokortikoidno delovanje analogov bisfenola A in iskala njihovo povezavo med strukturo in delovanjem. Ugotovila je, da bisfenoli z manjšim substituentom delujejo agonistično, medtem ko bisfenoli s sterično večjim substituentom ali daljšo razdaljo med hidroksilnima skupinama delujejo antagonistično. Te rezultate je potrdila s pomočjo molekulskega sidranja.

Na celični liniji MCF-7 je pokazala, da bisfenol AF poveča adhezijo celic na vitronektin tako, da aktivira vitronektinski receptor. To je prvi dokaz, da lahko hormonski motilec deluje preko takšnega mehanizma. Ta mehanizem delovanja pa ni zaželen, predvsem pri kemikalijah, ki imajo tudi druge mehanizme delovanja, ki lahko vodijo do rakavih bolezni.

V sklopu doktorskega študija je razvila tudi prosto dostopno internetno aplikacijo *Endocrine Disruptome*, ki omogoča molekulske sidranje v izbrane in validirane kristalne strukture jedrnih receptorjev. Ker je *Endocrine Disruptome* preprost za uporabo in na voljo na internetu, lahko uporabnik hitro in učinkovito izračuna, ali je spojina hormonski motilec ali ne.

# GENERALNA SKUPŠČINA EVROPSKEGA ZDRUŽENJA BOLNIŠNIČNIH FARMACEVTOV, GA EAHP 2016

Generalna skupščina Evropskega združenja bolnišničnih farmacevtov (EAHP: European Association of Hospital Pharmacists) je bila na Češkem v Pragi med **9. in 12. junijem 2016**.

Najpomembnejši projekt, ki ga je izvedel EAHP in ki ga obravnavamo na vseh sestankih, so Izjave bolnišnične farmacije, ki smo jih sprejeli na European Summit on Hospital Pharmacy maja 2014. S postopkom Delphi so poleg bolnišničnih farmacevtov o vlogi bolnišnične farmacije v družbi in v zdravstvenem sistemu izrazili svoje mnenje tudi predstavniki drugih zdravstvenih delavcev (evropskih združenj zdravnikov, specialistov, medicinskih sester in babic) in predstavniki združenj bolnikov na evropski ravni.

Zavedanje o bolnišnični farmaciji je potrebno dvigniti na višjo raven, zato je potrebno vložiti kar največ truda v implementacijo Izjav o bolnišnični farmaciji. Odbor EAHP je predstavil vizijo implementacije izjav v državah članicah in zasnovo projekta implementacije. Projekt bo vodil dosedanji član odbora EAHP iz Anglije Tony West, v uradu v Bruslju pa bosta za ta projekt zaposlena še dva nova sodelavca. Delegati smo v delavnicah, ki so potekale v času generalne skupščine, obravnavali predlagani projekt in prispevali dodatne predloge in zahteve ter podporo za sodelovanje v projektu na nacionalni ravni. Odločili smo se, da bo vsaka država članica predlagala enega ali več »ambasadorjev«, ki bodo vezni člen med ura-

dom v Bruslju, ki vodi projekt implementacije, in nacionalnim združenjem bolnišničnih farmacevtov. Skrbel bo za širitev pravih in pravočasnih informacij med svojimi člani in za posredovanje potrebnih informacij za potek projekta.

Tudi letos so svoja poročila predstavili: predsednica EAHP Joan Peppard, izvršna direktorica Jennie de Greef, finančni direktor Petr Horák in »Policy officer« Richard Price. Richard Price je v svojem poročilu povzel vse aktivnosti, ki potekajo na ravni institucij v Bruslju v zvezi z zdravstvom, zdravili in zdravstvenimi sistemi. O teh redno informira delegate posameznih držav in s tem vse člane združenja z mesečnim poročilom Monitor in z objavo Izjave za javnost.

**V finančnem poročilu in načrtu**, ki ga je predstavil in natančno obrazložil finančni direktor Petr Horák, so zajete vse aktivnosti EAHP: organizacija sestankov odbora, generalna skupščina, seminarji, raziskava EAHP, vsi projekti, ki jih vodi EAHP: CTF - Common Training Framework, Izjave bolnišnične farmacije - Statements on Hospital Pharmacy, EJHP - European Journal of Hospital Pharmacists, pa tudi stroški vodenja EAHP v uradu v Bruslju: stroški kadra, ki so redno ali pogodbeno zaposleni (osebje, računovodja, pravnik), najemnina pisarne v Bruslju, stroški stalnega vzdrževanja visoke ravni informacijske tehnologije, pisarniški stroški, komunikacija. Stroški **sestankov odbora in drugih komisij** zajemajo stroške bivanja v kraju sestanka in kritje odsotnosti z dela za člane odbora (pogodbe med EAHP in bolnišnicami, v katerih so zaposleni člani odbora). Za naslednje leto so načrtovana tudi manjša sredstva za podporo projektov članov EAHP skladno s pobudo srbskega delegata Nenada Miljkovića.

Enkrat letno EAHP organizira **strokovni seminar (Academy seminar)** za svoje člane in krije vse stroške seminarja ter stroške udeležencev, razen potnih stroškov. Osnovni namen takšnih seminarjev, s katerimi je EAHP začel že v letu 2006, je bil izobraževanje delegatov iz novih držav članic. Z leti je prerasel v obliko izobraževanja za vse članice EAHP in je sedaj na voljo za 2 ali 3 delegate iz posamezne države. Na letošnji skupščini je bil izglasovan sklep, da bo moral v prihodnje vsak prijavljeni delegat, ki svoje neudeležbe v primeru višje sile pravočasno ne javi v urad, sam kriti vse stroške, ki bodo nastali v zvezi s tem (hotelska nastanitev in družabna srečanja, ki jih organizira lokalno združenje bolnišničnih farmacevtov). Za razliko od prejšnjih let je EAHP v letu 2016 organiziral dva seminarja hkrati. Prvi je nadaljevanje seminarja iz leta 2015 z naslovom Medication reconciliation – Pregled uporabe zdravil, drugi seminar pa s področja vodenja kakovosti v bolnišnični lekarni z naslovom: Nov pristop k vodenju kakovosti.

V letu 2016 je potekal **21. kongres EAHP** na Dunaju, kjer se je zbralo preko 3500 bolnišničnih farmacevtov iz Evrope in



drugih celin. EAHP kongres je glavni vir financiranja združenja in izobraževalnih programov v izvedbi EAHP. Poleg aktualnih predavanj in predstavitev spremljata kongres bogata razstava in obsežna predstavitev posterjev. To je največji kongres v Evropi za bolnišnične farmacevte, ki pritegne tudi veliko število sponzorjev, ki so vključeni v različne programe: platinasti, zlati, srebrni in ostali. Razstavljalci predstavljajo najnovejše tehnologije v farmaciji, napredna zdravila in programe izobraževanja za bolnišnične farmacevte.

**EJHP:** Evropski časopis bolnišničnih farmacevtov, ki ga od leta 2012 izdaja British Medical Journals, izhaja šestkrat letno, v njem so objavljeni originalni znanstveni članki, raziskovalno delo v bolnišničnih lekarnah in dobre prakse. Vsak prispevek je povezan z eno ali več izjavami s seznama 44 Evropskih izjav o bolnišnični farmaciji, ki so bile sprejete leta 2014.

Vse od leta 1990 EAHP izvaja petletne **raziskave** o praksi bolnišnične farmacije v evropskih državah, članicah EAHP. Glavni namen je spremljati spremembe oziroma napredek v storitvah bolnišničnih lekarn v evropskih bolnišnicah, poiskati dobre prakse in širiti znanje ter poiskati možnosti za nadaljnji napredek. Zadnje raziskavo iz leta 2010 je vodila Slovenija, rezultati pa so bili objavljeni v seriji člankov v EJHP.

Z letom 2015 smo začeli z novim načinom zbiranja podatkov o aktivnostih bolnišničnih farmacevtov v Evropi. Raziskava je zasnovana na 44 Evropskih izjavah o bolnišnični farmaciji, ki so glavna platforma za praktični razvoj bolnišnične farmacije in delovanja EAHP. Temeljna raziskava, ki je potekala v letu 2015, je imela namen ugotoviti, kako se bolnišnična farmacija v Evropi sklada z Evropskimi izjavami. Jeseni 2015 se je raziskava nadaljevala in se je osredotočila na dve od šestih področij, v katera so razporejene izjave (44 izjav v 6 poglavjih). V prihodnje bo vsako leto potekala raziskava, ki bo zajemala 3 poglavja izjav.

**Direktiva o ponarejenih zdravilih**, ki velja od 21. 07. 2011, v določila o zdravilih v humani medicini (zakonik Skupnosti o zdravilih za uporabo v humani medicini, veljaven od 6. 11. 2001) dodaja spremembe glede preprečevanja vstopa ponarejenih zdravil v zakonito dobavno verigo z določitvijo podrobnih pravil za zaščitne elemente na ovojnicah zdravil za uporabo v humani medicini. Delegirano uredbo je Evropska komisija objavila 2. 10. 2015, v veljavo je stopila 16. 02. 2016, države članice EU pa imajo čas do **16. 02. 2019**, da zagotovijo izvajanje uredbe.

**EMVO** (European Medicines Verification Organisation): je 'model interesnih skupin', ki je v Delegirani uredbi Evropske komisije opisan kot odgovoren za izvajanje vseevropskega verifikacijskega sistema za zdravila. Sicer je to združenje velikih evropskih skupin, ki predstavljajo farmacevtsko industrijo, skupino proizvajalcev generičnih in biološko podobnih zdravil,

skupino farmacevtov iz zunanjih lekarn, veletrgovine ter paralelno distribucijsko industrijo.

Na generalni skupščini smo odločali o članstvu EAHP v EMVO, ki skladno z višino članarine omogoča stopnjo vpliva bolnišničnih farmacevtov v tej organizaciji. Zaradi izredno visoke članarine v EMVO za pridobitev statusa polnopravnega člana s pravico glasovanja, je skupščina izglasovala pridruženo članstvo. Delegati smo tudi podprli predlog, da se EAHP pritoži Evropskemu varuhu človekovih pravic zaradi postopka, s katerim je bila Delegirana uredba sprejeta. Pritožba se bo osredotočila na neustrezno posvetovanje, pomanjkanje transparentnosti in pomanjkljivo oceno učinka. Zanimajo nas vpliv Delegirane uredbe na bolnišnični sektor ter kasnejše ustrezne spremembe.

V preteklih letih se je izkazalo za učinkovito, da člani skupščine izrazijo svoje mnenje na delavnicah glede strateških vprašanj, s katerimi se ukvarja odbor EAHP. Delegati smo na **delavnicah** obravnavali najpomembnejše teme EAHP: **CTF projekt, raziskavo EAHP in implementacijo Evropskih določil ter poskusni pregled orodja za samoocenjevanje storitev bolnišnične lekarne**. Izkazalo se je, da je pri raziskavi glavna ovira jezik, tako za doseganja višje stopnje odziva kot tudi za zanesljivost odgovorov. Ker so možni odgovori preveč ohlapni, je prevladal predlog, da namesto možnih odgovorov »zelo verjetno« in »manj verjetno«, izrazimo odgovor v odstotkih. Preizkusno orodje za samoocenjevanje, ki je bilo predstavljeno, je ameriški produkt, zato je bilo mnenje delegatov, da je potrebna previdnost pri izrazih, ki na evropskih tleh niso ustaljeni in bi lahko povzročali nerazumevanje. Pomembna je hitrost orodja in njegova enostavnost za uporabo ter potencialna združljivost z mobilnimi napravami. Predstavljeno orodje bi bil lahko odličen pripomoček za vodje lekarn, s katerim bi lahko ugotavljali napredek lekarne, ne bi pa služil za primerjavo med sorodnimi lekarnami v Evropi.

Na delavnici o CTF se je izkristaliziralo vprašanje, kako se bodo obravnavale razlike v znanju med državami s strokovnih področij, kot so na primer medicinski pripomočki, radiofarmacija in sterilizacija ter znanja s področja intenzivne terapije in pediatrije.

Z letošnjo skupščino sta se EAHP pridružili dve **novi člani**: Črna gora in Fédération Nationale des Syndicats d'Internes en Pharmacie (FNSIP), ki je del Francoske platforme.

Naslednje leto bo v juniju generalno skupščino Evropskega združenja bolnišničnih farmacevtov gostilo društvo bolnišničnih farmacevtov z Malte.

*Vesna Bizjak,  
ambasador Sekcije bolnišničnih farmacevtov Slovenije in  
slovenski delegat v generalni skupščini EAHP*

# POROČILO Z EVROPSKEGA HOMEOPATSKEGA KONGRESA NA DUNAJU (17.-19. NOVEMBER 2016)

dr. Maruša Hribar, mag. farm.

Strokovnjaki za homeopatijo smo se novembra 2016 zbrali na evropskem homeopatskem kongresu na Dunaju, kjer smo osvežili sodelovanje med seboj pri izvajanju homeopatije v celem evropskem prostoru, saj smo prihajali iz skoraj vseh evropskih in tudi drugih svetovnih držav. Na kongresu smo izmenjali znanja in novosti s področja te personalizirane medicine, primerne za vse starosti pacientov, kar je bil tudi cilj tega kongresa, ki ga je organiziral ECH (European Committee for Homeopathy) v okviru praznovanja 200-letnice homeopatije v srednji Evropi. Kongres je ponudil novo mednarodno platformo za predstavitelje in razprave iz primerov dobre prakse (Evidence Based Studies). Program je bil sestavljen iz usmerjenih delavnic za začetnike in druge že izkušene strokovnjake, vseboval pa je tudi znanstvene seje in razprave strokovnih delovnih skupin.

Strokovnjaki, ki svoje delo posvečajo raziskavam na področju odkrivanja novih dosežkov homeopatije, so podali rezultate številnih študij in uspehov praktičnega dela homeopatskega zdravljenja pri bolnikih s področij onkologije, ADHD sindroma, sindroma izgorelosti, hormonskega neravnovesja, protimikrobne rezistence, geriatrije in paliativne oskrbe, kjer je bila predstavljena tudi uporaba homeopatije v veterini.

Italijanski znanstvenik dr. P. Bellavite je v okviru bazičnih eksperimentalnih študij uporabe homeopatije na živalih in celičnih linijah na konferenci na Dunaju ponovno predstavil

rezultate vpliva homeopatije na spreminjanje genske ekspresije z namenom poudarka pomembnega področja rasti celic v telesu in možnosti delovanja na programirano celično smrt (apoptozo). Ta smer raziskovalnega napora kaže namige, da bo homeopatija uspešno zmanjševala neželene učinke kemoterapije in radioterapije v bodoče v še večjem obsegu za onkološkega bolnika.

Uspešnost homeopatije v povezavi glede na demografsko strukturo prebivalstva v Evropi, ki se stara in se z leti večja delež starejše populacije v primerjavi z mlajšo generacijo, kar zahteva razvoj paliativne oskrbe in ozaveščanje danes še delovne populacije ljudi o procesih človeškega telesa pri staranju in pričakovanih možnih tegobah, ki jih bo prinesla starost vsakemu posamezniku. Med te preventivne ukrepe štejemo tudi uporabo homeopatije, ki neinvazivno poskuša zavirati in upočasniti procese staranja. Dr. Peter Fisher, direktor kraljeve londonske bolnišnice za integrativno medicino, nam je kot strokovnjak s področja revmatologije predstavil skupino homeopatskih zdravil, ki delujejo na mišično skeletne bolezni, ki so med najbolj razširjenimi obolenji in naraščajo s staranjem prebivalstva, saj bo tegoba oteženega gibanja pri starostnikih v bodoče množičen problem. Nepokretnost takšnega pacienta zahteva tako medicinsko kot tudi psihosocialno dnevno popolno oskrbo, kar je organizacijsko, finančno in logistično veliko breme vsake države in vsake družine.

Prisotni smo se seznanili z možnostjo načinov izvajanja strategije SZO (svetovne zdravstvene organizacije) 2014-2023 za izvajanje homeopatije v okviru tradicionalne in komplementarne medicine v Evropi. Med udeleženci, ki so predstavili pomen strategije naj omenim: dr. T. Peinbauer – predsednik ECH (European Committee for Homeopathy), dr. E. Rossi – iz Bolnišnice v Toskani, dr. E. Segall – European Federation of Homeopathic Patients' Association, dr. E. De Beukelaer – predsednik IAVH (International association for Veterinary Homeopathy), dr. P. Fisher – član WHO (World Health Organisation) za homeopatijo in dr. Lojze Peterle član evropskega parlamenta, ki je v svoji video izjavi izrazil željo in pomembnost integracije homeopatije v zdravstveni sistem današnje družbe. Na to njegovo izjavo smo bili udeleženci naše države ponosni.

V okviru farmacevtskega podkomiteja sem se aktivno udeležila predstavitve homeopatije, njene uporabe, regulative izdelave, dostopnosti in smernic homeopatske farmakopeje. Predavatelji so bili: R. Langer: Regulativne zadeve homeopatskih zdravil v Evropi, A. Dadack: Homeopatija v humani medicini in veterini, J. Hendrickx: Razpoložljivost homeopatskih zdravil, J. Borneman: Pregled ameriške homeopatske farmakopeje in njen pomen, C. Mol : Dostop-



nost homeopatskih zdravil v Evropi, R. Muntz: Novosti pri iskanju novih homeopatskih zdravil in S. Buchheim: Primerjava izdelave homeopatskih zdravil različnih farmakopej.

Švicarski strokovnik za ADHD dr. H. Frei je predstavil zanimivo predavanje, v katerem je podal izzive homeopatije v pediatriji s primeri zdravljenja hiperaktivnosti pri otrocih. Zaradi naraščanja tega obolenja glede na število otrok stane zahteva razvoj novih trendov v konvencionalni terapiji, med katerimi je homeopatski pristop zelo dobrodošel, saj gre za zelo občutljivo populacijo pacientov (otrok).

Z veseljem smo poslušali tudi dve slovenski predavateljici dr. Katarino Glas, ki je predstavila uspešnost homeopatije pri zdravljenju *Moluscum contagiosum* in dr. Nene Židov, ki je predstavila zgodovino homeopatije do druge svetovne vojne na slovenskem.

Uporabo homeopatije v veterini sta med drugim predstavila dr. Edward De Beukelaer in dr. L. Ellinger. Slednji je omenil pomembnost homeopatije pri epidemijah in zmanjševanje uporabe antibiotikov v veterini. Množična uporaba antibiotikov pri živalih daje možnost razvoja antimikrobne rezistence, v prehranski verigi pa večja ogroženost tako pripravljene hrane za potrošnika ob omembe vredni kontaminaciji okolja s presnovki antibiotikov, ki tako pomeni ogrožanje celega biotopa.

Na konferenci na Dunaju smo izvolili novo predsednico Evropskega komiteja za homeopatijo in to je strokovnjakinja iz Francije dr. Helene Renoux.

Konference se nas je udeležilo lepo število magistrstov farmacije in zdravnikov homeopatov iz Slovenije, ki se zavzemamo za razvoj homeopatije v Sloveniji z željo čim večje dostopnosti vsem prebivalcem naše družbe.





# ČASTNI DOKTORAT

prof. dr. Stanetu Srčiču

Profesorju dr. Stanetu Srčiču s Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani je madžarska univerza v Szegedu v novembru 2016 podelila častni doktorat, Doctor Honoris Causa.

V utemeljitvi so zapisali, da se profesorju Stanetu Srčiču častni doktorat podeljuje za več kot tridesetletno znanstveno-raziskovalno in pedagoško sodelovanje s Fakulteto za farmacijo Univerze v Szegedu. Sodelovanje odlikujejo skupne objave v prestižnih revijah, skupni nastopi na konferencah in kongresih, sodelovanje na doktorskem študiju



v Szegedu, šest skupnih doktoratov in sodelovanje v doktorskih komisijah, prav tako pa tudi za veliko podporo diplomskim in podiplomskim študentom, ki so prihajali na Fakulteto za farmacijo Univerze v Ljubljani opravljat del svojih raziskav v okviru bilateralnih ali multilateralnih projektov.









## Pot do zdravja

Nas oči so zdravi in srečni ljudje. Smo večdrugeje za prodajo zdravih najboljše ponudbo izdelkov za humano in veterinarsko medicino v Sloveniji. Odlikuje nas filozof, varnost in zanesljivost. Svoje delo opravljamo srčno in predano. Prav zaradi tega nam zaupajo številne lekarne in bolnišnice ter druge zdravilne in veterinarske ustanove.

Zavedamo se, da nam prihodnost prinaja neslute zivov. Remagamo jih lahko z neneznimi izpopolnjevanjem. S kakovostnimi storitvami in s široko zabo zdravi ter drugih izdelkov bomo zaupanje svojih kupcev uprteževali tudi v prihodnjel.

01 470 98 00 | [www.kemofarmacija.si](http://www.kemofarmacija.si)

