



- 3** Uvodnik
- 5** Cepljenje *in situ* z genskim elektroprenosom za zdravljenje raka – *Urška Kamenšek, Gregor Serša*
- 23** Prevajanje akcijskega potenciala po živčnem vlaknu – *Maša Skelin Klemen*
- 39** Lepra (gobavost) – *Helena Biasizzo, Petra Grbec*
- 53** Novejše terapevtske skupine za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2 – *Jasna Klen*
- 71** Fulminantni miokarditis z večorgansko odpovedjo zaradi okužbe z virusom influence A: prikaz primera – *Nina Kobal, Bojana Beović, Milica Lukić, Vojka Gorjup*
- 87** Nadzor plodovega stanja med porodom – *Katja Ražem, Miha Lučovnik, Bojana Pinter*
- 97** Divertikulitis sigme s fistulo v sečni mehur – prikaz primera in pregled literature – *Metka Sluga, Simon Hawlina, Jan Grosek*
- 107** Učinkovitost in varnost enega odmerka Flebavena® (diosmin) po 1.000 mg dnevno pri bolnikih s kronično vensko boleznijo – *Barbara Krevel, Breda Barbič-Žagar, Nataša Uranič*
- 119** Diagnostični izziv
- 123** Novice
- 133** Seznam diplomantov
- 135** Navodila avtorjem
- 141** Guidelines for Authors

## **MEDICINSKI RAZGLEDI**

Biomedicinski raziskovalni, strokovni in pregledni članki

---

### **UREDNIŠTVO**

Društvo Medicinski razgledi  
Korytkova ulica 2  
1000 Ljubljana  
Slovenija

**T** (01) 524 23 56 **F** (01) 543 70 11

**E** info@medrazgl.si

**S** www.medrazgl.si

**POR: 02014-0050652588**

---

### **GLAVNI UREDNIK**

Tilen Kristanc

### **ODGOVORNI UREDNIK**

Anžej Hladnik

### **TEHNIČNI UREDNIKI**

Anamarija Hribar, Jurij Martinčič,  
Anita Meglič, Samo Roškar, Gašper  
Tonin

### **UREDNIŠKI ODBOR**

Tjaša Gortnar, Lucija Kobal, Nina  
Kobal, Vanesa Koračin, Katja Kores,  
Filip Korošec, Ana Karin Kozjek,  
Naneta Legan, Gaja Markovič,  
Jure Puc, Zala Roš, Uroš Tršan,  
Lana Vodnik, Nika Vrabič, Ines  
Žabkar, Nika Žagar, Sandra Žunič

### **LEKTORJA**

Mateja Hočevar Gregorič, Gašper Tonin

### **LEKTORICA ZA ANGLEŠKI JEZIK**

Lea Turner

---

### **PRELOM**

SYNCOMP d. o. o.

### **TISK**

Nonparel d. o. o.

### **FOTOGRAFIJA NA NASLOVNICI**

Anžej Hladnik

---

### **PODPORNIKI**

Medicinska fakulteta UL  
Javna agencija za raziskovalno  
dejavnost RS

Revija izhaja štirikrat letno v 1.800 izvodih.

Cena izvoda je **6 €**, za študente **4 €**, za ustanove **10 €**.

---

### **COPYRIGHT © MEDICINSKI RAZGLEDI 2020**

Vse pravice pridržane. Razmnoževanje ali razširjanje posameznih delov ali celotne publikacije s katerimkoli sredstvom brez pisnega privoljenja založbe je prepovedano.

- 3** Uvodnik
- 5** Cepljenje *in situ* z genskim elektroprenosom za zdravljenje raka – *Urška Kamenšek, Gregor Serša*
- 23** Prevajanje akcijskega potenciala po živčnem vlaknu – *Maša Skelin Klemen*
- 39** Lepra (gobavost) – *Helena Biasizzo, Petra Grbec*
- 53** Novejše terapevtske skupine za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2 – *Jasna Klen*
- 71** Fulminantni miokarditis z večorgansko odpovedjo zaradi okužbe z virusom influence A: prikaz primera – *Nina Kobal, Bojana Beovič, Milica Lukič, Vojka Gorjup*
- 87** Nadzor plodovega stanja med porodom – *Katja Ražem, Miha Lučovnik, Bojana Pinter*
- 97** Divertikulitis sigme s fistulo v sečni mehur – prikaz primera in pregled literature – *Metka Sluga, Simon Hawlina, Jan Grosek*
- 107** Učinkovitost in varnost enega odmerka Flebavena® (diosmin) po 1.000 mg dnevno pri bolnikih s kronično vensko boleznijo – *Barbara Krevel, Breda Barbič-Žagar, Nataša Uranič*
- 119** Diagnostični izziv
- 123** Novice
- 133** Seznam diplomantov
- 135** Navodila avtorjem
- 141** Guidelines for Authors



## Spoštovane bralke in bralci!

Verjetno je večina naših zvestih bralcev opazila, da je v tej številki manj prispevkov kot v preteklih. Pri tej odločitvi žal nismo imeli veliko izbire, saj se je v zadnjih dveh letih število prejetih prispevkov v primerjavi s predhodnim obdobjem prepolovilo. Sprva smo mislili, da gre zgolj za odstopanje od dolgoletnega povprečja, a na žalost ni tako, saj se upadanje števila prejetih prispevkov nadaljuje tudi letos. Vir prispevkov, ki se je nekaj let nazaj zdel zadosten, iz različnih vzrokov počasi usiha. Tradicije izdajanja štirih števil v enem letniku ne želimo pretrgati, zato smo se odločili, da zmanjšamo število prispevkov v posamezni številki revije.

Pomanjkanje prispevkov bomo delno predvidoma nadomestili s posebnimi številkami, v katerih bomo v sodelovanju z eno izmed kateder Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani objavili pregledne prispevke, ki bodo uporabni tudi kot študijsko gradivo za pripravo na izpit na fakulteti. Menimo, da bodo omenjeni prispevki zanimivi tudi širšemu bralstvu. Ukrepom navkljub pa ostaja dejstvo, da se je dotok novih prispevkov močno zmanjšal. Zato vas, drage bralke in bralci, vabimo, da sodelujete z nami pri soustvarjanju prihodnjih števil. Najbolj k pisanju strokovnih prispevkov spodbujamo študente, saj je bil eden od glavnih motivov za ustanovitev društva Medicinski razgledi prav omogočanje priložnosti in prostora za objavo rezultatov študentskih raziskovalnih podvigov. Če ste v preteklih letih izvajali raziskovalno delo in bi svoje izsledke radi predstavili kolegom, vas vabimo, da to storite v obliki raziskovalnega članka. Če pa vam raziskovalno delo ni najbolj pri srcu, uživajte pa v poglobljenem učenju in spremljanju trenutne literature na kakšnem področju, pa svoje pridobljeno znanje s pomočjo preglednega članka lahko delite z ostalimi bralci.

Uredniki revije skrbimo, da v sodelovanju z avtorji prispevke oblikovno in slogovno uredimo, da jih recenzirajo zunanji recenzenti, poleg tega pa poenotimo besedišče in strokovnim izrazom poiščemo primerno slovensko ustreznico. Bodočim avtorjem smo za kakršnakoli vprašanja ali nasvete pri pripravljanju prispevkov vedno na voljo (spletna družbena omrežja, e-pošta, osebno v uredništvu, telefon).

Veselimo se sodelovanja in vam želimo prijetno branje.

Uredništvo revije



Urška Kamenšek<sup>1</sup>, Gregor Serša<sup>2</sup>

# Cepljenje *in situ* z genskim elektroprenosom za zdravljenje raka

## *In Situ Vaccination by Gene Electrotransfer for Cancer Treatment*

### IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: cepljenje, rak, genski elektroprenos, plazmidi, elektroporacija, dejavnik tumorske nekroze  $\alpha$ , interlevkin-12

Rak je skupina sistemskih bolezni, ki jim je skupna motnja v delovanju imunskega sistema. Različni imunoterapevtski pristopi stremijo k sprožitvi oz. ponovni sprožitvi ali pa k pospešitvi delovanja imunskega sistema v boju proti raku. Eden izmed bolj robustnih tovrstnih pristopov je t. i. cepljenje *in situ*, kjer z različnimi ablacijskimi načini zdravljenja sprožimo imunski odziv proti tumorskim antigenom, ki se sprostijo iz umirajočih rakavih celic. Da bi dosegli sistemski in trajen odgovor, je te načine zdravljenja treba združiti s takimi, ki pospešujejo delovanje bolnikovega imunskega sistema. Na Oddelku za eksperimentalno onkologijo Onkološkega inštituta Ljubljana se ukvarjamo z obliko genskega zdravljenja, t. i. genskim elektroprenosom, ki je primeren tako za sprožitev cepljenja *in situ* kot tudi za pospešitev imunskega sistema. Pred kratkim smo na mišjem modelu raka dokazali, da lahko cepljenje *in situ* dosežemo z genskim elektroprenosom plazmidnih vektorjev z zapisom za dejavnik tumorske nekroze  $\alpha$  in za interlevkin-12. V prihodnje želimo opisan pristop in podobne načine zdravljenja, ki temeljijo na genskem elektroprenosu, pripeljati do klinične uporabe. Tu pa ostaja odprto vprašanje priprave plazmidnih vektorjev v kakovosti, primerni za klinično uporabo, in izbora ustreznih bolnikov, ki jim bo takšen pristop kar najbolj koristil.

### ABSTRACT

KEY WORDS: vaccination, cancer, gene electrotransfer, plasmids, electroporation, tumor necrosis factor  $\alpha$ , interleukin-12

Cancer is a group of systemic diseases that involve malfunctions of the immune system. Different types of immunotherapy aim to reactivate or stimulate anticancer immunity. A more robust immunotherapeutic approach is a so-called *in situ* vaccination, where various local ablative therapies are used to induce a specific immune response against tumor antigens released from dying tumor cells. To achieve a systemic and durable response, these therapies need to be combined with immune adjuvants. At the Department of Experimental Oncology, at the Institute of Oncology in Ljubljana, we are exploring a form

<sup>1</sup> Dr. Urška Kamenšek, univ. dipl. biol., Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana; ukamensek@onko-i.si

<sup>2</sup> Prof. dr. Gregor Serša, univ. dipl. biol., Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana; Zdravstvena fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zdravstvena pot 5, 1000 Ljubljana

of gene therapy called gene electrotransfer, which can be used to induce *in situ* vaccination and stimulate the immune response. Recently, we proved the effectiveness of concomitant gene electrotransfer of plasmid vectors encoding tumor necrosis factor  $\alpha$  and interleukin-12 in a mouse melanoma tumor model. In this approach, the tumor necrosis factor  $\alpha$  acts as a local ablative therapy and interleukin-12 as an immunological adjuvant. In the future, we want to bring this and similar gene electrotransfer approaches into clinical practice. But first we have to tackle the problem of clinical grade plasmid vector design and selection of appropriate patients that would benefit the most from the proposed approach.

## UVOD

Trenutni postopki za zdravljenje raka so lahko zelo učinkoviti, ampak v mnogih primerih ne uspejo popolnoma ozdraviti bolezni. Zasevki so odgovorni za več kot 90 % vseh smrti zaradi raka (1). Da bi pozdravili razsejano bolezen, bi moral imunski sistem prepoznati in odstraniti rakave celice po celem telesu. Čeprav pri rakavih bolnikih najdemo imunske celice, uperjene proti tumorskim antigenom, nam dejstvo, da rak kljub temu vznikne, pove, da je imunski sistem zatajil (2, 3). Idealno zdravljenje bi torej moralo sprostiti tumorske antigene in hkrati pustiti imunskemu sistemu, da se bori proti rakavim celicam. Izkoriščanje bolnikovega lastnega imunskega sistema za boj proti raku je trenutno najbolj obetavno in tudi uspešno onkološko področje. Eden izmed bolj robustnih tovrstnih pristopov je t. i. cepljenje *in situ* (angl. *in situ* vaccination), kjer z različnimi ablacijskimi načini zdravljenja sprožimo imunski odziv proti tumorskim antigenom, ki se sprostijo iz umirajočih rakavih celic. Da bi dosegli sistemski in trajen odgovor, je takšno zdravljenje treba združiti z zdravljenjem, ki pospešuje delovanje bolnikovega lastnega imunskega sistema ali pa preprečuje imunsko zavrtje.

Na Oddelku za eksperimentalno onkologijo Onkološkega inštituta Ljubljana se ukvarjamo z obliko genskega zdravljenja, imenovanega genski elektrotransfer, ki je primeren tako za sprožitev cepljenja *in situ* kot tudi za pospešitev imunskega sistema (4).

V članku je podrobneje opisan postopek genskega elektrotransfera s poudarkom na plazmidnih vektorjih, ki jih pri tem uporabljamo. Prizadevamo si namreč pripraviti lastne plazmidne vektorje nove generacije, s katerimi želimo zagotoviti boljše ciljanje in učinkovitost zdravljenja, predvsem pa skladnost z varnostnimi priporočili glede uporabe antibiotikov pri klinično uporabnih plazmidih. Na koncu je opisana še uporaba genskega elektrotransfera za cepljenje *in situ*.

## IMUNOLOŠKO ZDRAVLJENJE RAKA

Rak je skupina sistemskih bolezni, ki jim je skupna motnja v delovanju imunskega sistema. V procesu nastanka in razvoja raka se tumorske celice uspejo izogniti prepoznavanju in odstranitvi s strani imunskega sistema (5–7). Različni pristopi imunološkega zdravljenja stremijo k sproženju oz. ponovnem sproženju ali pa k pospešitvi delovanja imunskega sistema v boju proti raku (8, 9). Trenutno v predkliničnih in kliničnih raziskavah preizkušajo številne takšne pristope (10, 11). Nekaj jih je že odobrenih za klinično uporabo: od protiteles, ki delujejo kot zaviralci imunskih kontrolnih točk (npr. ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, durvalumab), do različnih vrst celičnega zdravljenja, kot so npr. celično cepivo Provenge in zdravljenje z gensko spremenjenimi celicami T, ki izražajo himerne antigenske receptorje (angl. *chimeric antigen receptor T-cell*, CAR-T). Med te spadajo npr. Kymriah® in Yescarta® (12).



## Imunološka narava protirakavih načinov zdravljenja

Z uspehom novih imunoloških pristopov je postalo tudi jasno, da je imunski sistem vpleten v protirakavo delovanje nekaterih klinično uveljavljenih terapij raka, kot sta radioterapija in kemoterapija (13). Pravzaprav mora prav vsako resnično uspešno zdravljenje imeti tudi vpliv na imunski sistem. S tem lahko pojasnimo popolne ozdravitve po tovrstnem zdravljenju, za katere je potrebno uničenje čisto vseh rakavih celic. Učinki so namreč vidni tudi na tistih celicah, ki niso bile neposredno izpostavljene zdravljenju, kar imenujemo posredovani (angl. *bystander*) učinek, včasih pa izginejo tudi oddaljeni nezdravljeni zasevki, kar imenujemo oddaljeni (angl. *abscopal*) učinek. Predlagan mehanizem teh učinkov je, da zdravljenje sproži posebno imunogeno obliko celične smrti, ki nato sproži imunski odziv proti rakavim celicam (14–17).

Izraz imunogena celična smrt so vpeljali v zadnjem desetletju, da bi z njim označili posebno funkcionalno obliko programirane celične smrti, ki lahko povzroči nastanek vnetnega odziva brez prisotnosti patogenov (17, 18). Pri imunogeni celični smrti se iz umirajočih celic hkrati s tumorskimi antigeni sprošča cela vrsta imunospodbujevalnih sporočevalcev nevarnosti oz. t. i. s poškodbo povezanih molekularnih vzorcev (angl. *damage-associated molecular patterns*, DAMP) (19). DAMP so v bistvu običajne znotrajcelične molekule, ki se sprostijo iz celice ali se izpostavijo na celični membrani pri imunogenih oblikah celične smrti. Tri izmed teh molekul so izbrali kot najpomembnejše označevalce imunogene celične smrti: kalretikulini, izpostavljeni na celični membrani, kromatinska beljakovina HMGB1 (angl. *high mobility group box 1*) in zunajcelični ATP (18). Kot zelo pomemben DAMP lahko nastopa tudi DNA, sproščena iz jeder umirajočih celic (20–22).

Sposobnost proženja imunogene celične smrti so že pripisali nekaterim ustaljenim

terapijam raka, kot so npr. kemoterapevtiki docetaksel, paklitaksel, doksorubicin in radioterapija (10, 23). Rakave celice po uporabi teh vrst zdravljenja torej umirajo z imunogeno obliko celične smrti, kar lahko privede do nastanka sistemskega pridobljenega imunskega odziva proti tumorskim antigenom, sproščenim iz umirajočih celic. Takšno zdravljenje torej pravzaprav deluje kot nekakšno cepivo (23–25).

## CEPLJENJE *IN SITU*

Med načini imunološkega zdravljenja raka, ki so se razvili v zadnjih desetletjih, je tudi terapevtsko cepljenje, namenjeno zdravljenju že prisotne bolezni. Razvoj protirakavih terapevtskih cepiv temelji na dejstvu, da rakave celice izražajo tumorske antigene, ki jih lahko uporabimo kot tarče za prapravo cepivo. Običajno terapevtsko cepljenje za zdravljenje raka je obrazloženo kot dostava izbranih tumorskih antigenov, proti katerim lahko telo sproži pridobljeni imunski odziv (26). Čeprav se sliši zelo obetavno, se pristop v klinični uporabi ni izkazal za uspešnega, predvsem zaradi pomanjkanja vsesplošnih tumorskih antigenov in zapletenosti ter cene priprave posamezniku prilagojenih cepiv *ex vivo* (27, 28).

Na podlagi zgoraj opisanih imunoloških učinkov uveljavljenih terapij raka so se pojavile ideje, da bi ta pojav izkoristili za cepljenje, tako da bi z zdravljenjem izzvali imunski odziv neposredno v novotvorbi, *in situ* (15, 28). Tako bi lahko izkoristili številne bolnikove lastne tumorske antigene in ne samo nekaterih izbranih, kot pri običajnih terapevtskih cepivih. Za pristop se je prijel izraz cepljenje *in situ*. Glavna prednost pristopa je, da izkoriščamo bolnikove lastne tumorske antigene, zato bi bil pristop lahko primeren za zdravljenje različnih tipov raka.

Za cepljenje *in situ* so primerne predvsem različne vrste lokalnega ablacijskega zdravljenja, od dobro uveljavljene radioterapije do novejših pristopov, kot so onko-

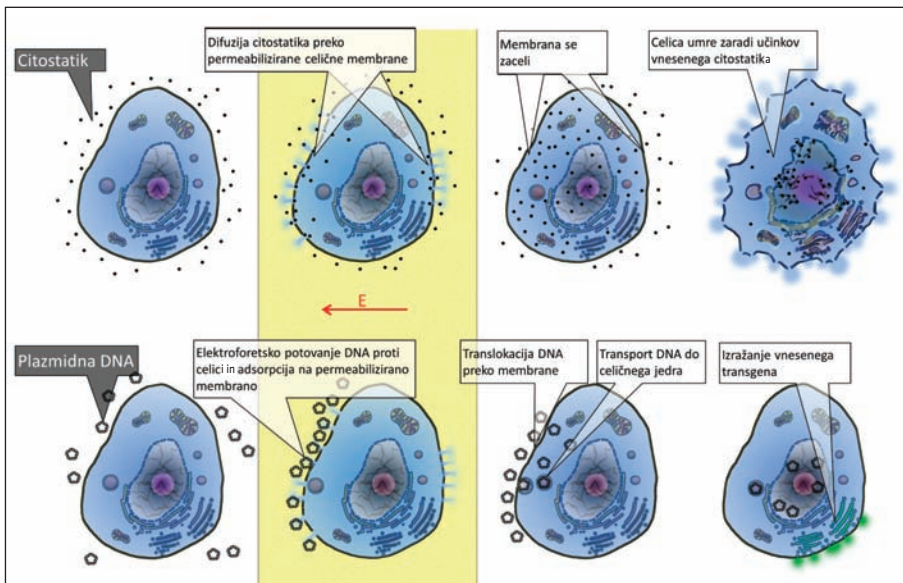
litični virusi, radiofrekvenčna- in krioablacija itd. (28–30). V naši raziskovalni skupini smo pred nekaj leti predlagali, da bi lahko za cepljenje *in situ* uporabili elektrokemoterapijo, s katero se že vrsto let ukvarjamo (25).

Elektrokemoterapijo smo na Onkološkem inštitutu med prvimi na svetu izvajali pri kliničnem delu, sedaj pa je že priznan lokalni ablacijski način zdravljenja, ki se izvaja v 160 zdravstvenih središčih širom Evrope (31, 32). Postopek temelji na uporabi elektroporacije, ki je fizikalni postopek, kjer z dovajanjem kratkih visokonapetostnih električnih pulzov lokalno omogočimo prehajanje molekul, za katere je sicer celična membrana slabo prepustna (33). Pri elektrokemoterapiji so te molekule različni kemoterapevtiki oz. citostatiki, predvsem cisplatin in bleomicin, lahko pa vnašamo tudi genski material, kar imenujemo genski elektro-prenos (slika 1).

### Imunološki spodbujevalci pri cepljenju *in situ*

Kot pri podobnih ablacijskih zdravljenjih je v protirakavo delovanje elektrokemoterapije

vpleten imunski sistem, kar dokazuje večja učinkovitost zdravljenja na imunsko odzivnih miših v primerjavi z imunsko zavrtimi (34). Dokazano je tudi povečano vdiranje antigen predstavitevnic celic na mesto zdravljenja (35, 36). Vendar pa v kliničnem delu ostaja elektrokemoterapija še vedno lokalni ablacijski postopek s sicer zelo visoko lokalno učinkovitostjo, toda brez dokazane sistemske učinkovitosti (37). Podobno velja za ostale načine zdravljenja, ki so jih predlagali za cepljenje *in situ* (38). Zgoraj opisani imunološki učinki ustaljenih terapij raka so namreč redek pojav: npr. oddaljeni učinek je dobro dokumentiran samo po radioterapiji (39, 40). To pomeni, da je cepljenju *in situ* treba dodati spodbujevalce imunskega sistema, ali pa, če je že prišlo do imunskega zavrtja, antagonist zavrtja. Z istim namenom se v protokolih običajnega terapevtskega cepljenja pogosto uporabljajo različni imunološki spodbujevalci, najpogosteje citokini, ki vodijo nastali imunski odziv v pravo smer (41). Eden izmed najpogosteje uporabljenih imunoloških spodbujevalcev je citokin interleukin-12 (IL-12),



**Slika 1.** Elektrokemoterapija in genski elektro-prenos (26). E - električno polje.

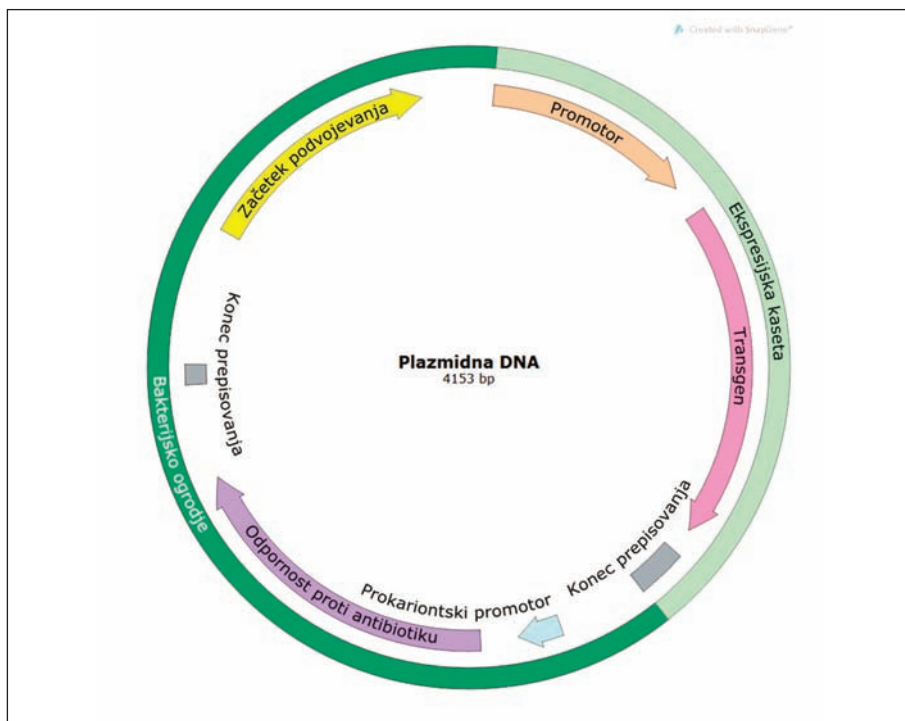
eden najučinkovitejših načinov za njegov vnos pa je že omenjeni genski elektroprenos (42–45).

## GENSKI ELEKTROPRENOS

Genski elektroprenos je oblika genskega zdravljenja, ki je opredeljena kot vnos genov, t. i. transgenov, v celice bolnika za doseganje zdravilnega učinka (46–48). Gensko zdravljenje delimo glede na vektorje za vnos genov na virusne pristope (t. i. transdukcija) in nevirusne pristope (t. i. transfekcija). Druga delitev genskega zdravljenja pa je glede na način dostave: na postopke *ex vivo* in *in vivo*. Pri postopkih *ex vivo* celice, odvzete iz bolnikov, gensko spremenimo v celični kulturi in jih nato vrnemo nazaj v telo bolnikov. Pri postopkih *in vivo* pa zdravljenje izvedemo z neposrednim vnosom genske-

ga materiala v telo. Genski elektroprenos je najuspešnejši nevirusni postopek genskega zdravljenja, ki omogoča lokalno *in vivo* dostavo genskega materiala v tkiva, kot so koža, mišice in tudi novotvorbe (4, 49).

Postopek genskega elektroprenosa omogoča dva načina genskega zdravljenja, sistemsko in lokalno zdravljenje. Kadar želimo sistemsko izražanje, lahko transferiramo mišice ali kožo, ki potem delujejo kot biološke tovarne za proizvodnjo transgena (50, 51). Takšen sistemski način je obetaven za proizvodnjo citokinov in cepljenje z DNA (angl. *DNA vaccination*). Po drugi stani pa nam postopek genskega elektroprenosa zaradi prostorske natančnosti, ki jo zagotavlja elektroporacija, omogoča tudi lokalni način, ki je primeren za ciljanje rakavih celic ali žilja novotvorbe. Uspešnost



**Slika 2.** Sestava plazmidnih vektorjev. Ekspresijsko kaseto sestavljajo promotor, transgen, zaporedje za konec prepisovanja in poliadenilacijsko zaporedje. Bakterijsko ogrodje je sestavljeno iz mesta za začetek podvojevanja (angl. *origin of replication*, ORI) in gena za odpornost proti antibiotiku s svojim promotorjem in zaporedjem za konec prepisovanja. Bp – bazni par.

tako lokalnega kot sistemskega načina je bila že dokazana v številnih predkliničnih raziskavah, tako da je postopek trenutno že v fazi kliničnega preizkušanja v ZDA (52–56).

Vektorji za transgene pri genskem elektroprenosu so plazmidi, ki imajo nizko integracijsko zmogljivost (se ne vključijo v DNA), zato je izražanje transgenov po genskem elektroprenosu prehodne narave, kar je varnejše in pri uporabi za cepljenje in gensko zdravljenje raka pravzaprav zaželeno (48).

## PLAZMIDNI VEKTORJI

Plazmidi so krožna, dvoverižna, episomalna DNA, ki je naravno prisotna v bakterijah. Gensko spremenjene bakterije izkoriščamo za namnožitev velikih količin plazmidne DNA za uporabo v genskem zdravljenju (57, 58). Plazmidna DNA je obstojna na sobni temperaturi, njeno izdelovanje je poceni in varno v primerjavi z izdelovanjem virusnih vektorjev.

Zgradba plazmidnih vektorjev ima lahko velik vpliv na mesto in dinamiko izražanja transgena (57). Poleg tega je pri pripravi plazmidov, ki so namenjeni klinični uporabi, treba upoštevati tudi varnostna priporočila nadzornih agencij, kot sta Evropska agencija za zdravila (European Medicines Agency, EMA) in ameriška Uprava za živila in zdravila (Food and Drug Administration, FDA). Na tržišču je omejen nabor terapevtskih plazmidov za zdravljenje raka. Zato se v naši raziskovalni skupini ukvarjamo s pripravo lastnih plazmidov, tako da preurejamo in spreminjamo različne sestavne dele glede na predvideno uporabo plazmida. Glavne sestavne dele plazmidnih vektorjev lahko delimo na ekspresijsko kaseto, ki nosi naš transgen, in bakterijsko ogrodje, ki ga potrebujemo za proizvodnjo plazmidov v bakterijah (slika 2).

### Gen za odpornost proti antibiotiku

Bakterijsko ogrodje nosi zapis za selekcijski označevalec, ki je običajno gen za odpornost proti antibiotiku, kar je pri klinični upo-

rabi lahko sporno (58–60). Obstaja namreč tveganje za horizontalni prenos odpornosti na okoljske in komenzalne mikroorganizme ter tveganje za alergijski odziv na ostanke antibiotika, ki se uporablja pri proizvodnji plazmidov (60, 61). Zato nadzorni agenciji, odgovorni za licenciranje zdravil, EMA in FDA, priporočata izogibanje genom za odpornost ali vsaj uporabo odpornosti proti takšnim antibiotikom, ki se ne uporabljajo za zdravljenje ljudi (62, 63). Tako plazmid, ki se uporablja v ameriških kliničnih raziskavah, vsebuje gen za odpornost proti kanamicinu, ki se za zdravljenje ljudi praktično ne uporablja (54).

Da bi zadostili varnostnim priporočilom, so znanstveniki razvili številne nadomestne načine za pripravo plazmidov, ki ne temeljijo na selekciji z antibiotikom. Eden takšnih načinov je operator-represorska titracija (ORT), ki jo je razvilo podjetje CobraBio (Keele, Združeno kraljestvo Velike Britanije in Severne Irske) (64). ORT temelji na dopolnitvi avksotrofije (tj. nezmožnost organizma za izdelovanje določene snovi, ki jo potrebuje za svojo rast) pri posebnem mutiranem sevu bakterij *Escherichia coli*. Vnos plazmidov v bakterije razreši avksotrofijo, saj omogoči izražanje manjkajoče esencialne aminokislina. ORT so uporabili za pripravo plazmidov za cepljenje z DNA proti virusu HIV in plazmida s protiangiogenim delovanjem (angl. *antiangiogenic metargidin peptide*, AMEP), ki so ga preizkusili v edini evropski klinični raziskavi genskega elektroprenosa (65, 66). ORT uporablja tudi naša raziskovalna skupina in smo z njo pripravili že več plazmidov (67–71). Poleg očitnih varnostnih prednosti so plazmidi, pripravljani na ta način, tudi manjši, kar zagotavlja večjo uspešnost transfekcije in manjšo imunogenost, saj je zmanjšan bakterijski del plazmida (72, 73).

### Ekspresijska kasetna

Dejavni del plazmidnega vektorja je ekspresijska kasetna s transgenom in nadzorno

regijo, tj. promotor, ki nadzoruje izražanje transgena. Promotor naj bi podpiral dolgotrajno izražanje transgena ali pa vsaj nadzorovano izražanje (57). V preteklosti je večina plazmidov vsebovala citomegalovirusni (CMV) promotor. Zdaj pa vemo, da CMV-promotor včasih ne zagotavlja dolgotrajnega izražanja, saj je zaradi virusnega izvora dovzeten za transkripcijsko utišanje v evkariontskih celicah (74). To smo pokazali tudi na Oddelku za eksperimentalno onkologijo v eni izmed raziskav genskega elektroprenosa (75). Poleg tega se izražanje pod nadzorom CMV-promotorja sproži tudi v stresnih pogojih, npr. po obsevanju. Zato se zadnje čase namesto virusnih promotorjev vedno bolj uporabljajo celicam lastni promotorji (76).

Primerna zamenjava za virusne promotore s stalnim izražanjem (konstitutivni promotorji) so promotorji celičnih hišnih genov (angl. *housekeeping genes*), ki se stalno izražajo v vseh tkivih telesa. Sem spadajo npr. promotor gena za podaljševalni dejavnik 1 $\alpha$  (angl. *elongation factor 1 $\alpha$* , EF-1 $\alpha$ ), za ubikvitin C ali za fosfoglicerat kinazo 1 (57). V pristopu, imenovanem transkripcijsko ciljanje, pa uporabimo promotore genov, ki se izražajo samo v nekaterih tkivih (tkivno specifični promotorji) ali postanejo dejavni pod vplivom določenih zunanjih ali notranjih dejavnikov (inducibilni promotorji). Med tkivno specifične promotore spada npr. promotor gena za endoglin, ki se izražale v žilah, med inducibilnimi promotori pa je najbolj znan tetraciklin-inducibilni promotor (angl. *tetracycline responsive element*, TRE) (57, 77–81).

Na Oddelku za eksperimentalno onkologijo smo preizkusili že več tkivno specifičnih promotorjev (67). Za najuspešnejšega oz. najbolj uporabnega za potrebe genskega elektroprenosa se je izkazal kolagenski promotor (68, 80). Ta promotor namreč omogoča specifično izražanje v fibroblastih, kar je ustrezno, kadar želimo izražanje v koži ali kadar ciljamo rakavo mikrookolje.

Preizkusili smo tudi inducibilni promotor gena za od ciklina odvisni kinazni inhibitor 1 (angl. *cyclin-dependent kinase inhibitor 1*, CDKN1A), bolj znanega kot p21. Gen p21 se povišano prepisuje ob genotoksičnem stresu, zato je njegov promotor uporaben, kadar želimo združiti gensko zdravljenje s kemoterapijo ali radioterapijo (81, 82).

Glavni del ekspresijske kasete je zapis za transgen, tj. gen, katerega izražanje želimo koristiti v zdravstvene namene. Izberemo jih lahko iz štirih različnih razredov (tabela 1). Lahko delamo zamenjavo ali popravilo okvarjenih genov, ker pa je rak posledica številnih mutacij, ta pristop ni vedno najbolj smiseln in učinkovit. Primernejši so pristopi, pri katerih sprožimo smrt rakavih celic. To lahko dosežemo z neposrednim ciljanjem rakavih celic s transfekcijo samomorilskih ali citotoksičnih genov (genska kemoterapija), posredno s ciljanjem rakavega žilja (žilno ciljano gensko zdravljenje), ali pa še bolje, s sprožitvijo protirakavega imunskega odziva (gensko imunološko zdravljenje). Pristopi slednjega vključujejo cepljenje z DNA, torej vnos zapisa za različne tumorske antigene, in transfekcijo imunospodbujevalnih citokinov (83–85). Najbolje raziskan in najpogosteje uporabljen citokin za genski elektroprenos je IL-12 (54, 86, 87). Tega preizkušamo tudi v naši raziskovalni skupini.

## GENSKI ELEKTROPRENOS INTERLEVKINA-12

IL-12 je vnetni citokin, ki spodbuja prirojeni in pridobljeni imunski odziv ter ga vodi v smer nastanka celic T-pomagalk 1 (angl. *helper T-cells 1*, Th1). Posledično vodi v sprožitev delovanja citotoksičnih limfocitov T in naravnih celic ubijalk, ki so še posebej pomembne za razvoj imunskega odziva proti rakavim celicam (88, 89). IL-12 deluje tudi protiangiogeno in spodbuja nastanek kemokinov, zato je nujno, da ga dostavimo samo v novotvorbo (42, 90). To so dokazali v prvih kliničnih raziskavah, kjer se je sistemski vnos rekombinantnega IL-12

**Tabela 1.** Delitev transgenov za različne vrste genskega zdravljenja (81). p53 – beljakovina 53 (angl. *protein 53*), CTS1 – himerni tumorski zaviralec 1 (angl. *chimeric tumor suppressor 1*), anti-Bcl-2 – utišanje gena za B-celični limfom 2 (angl. *B-cell lymphoma 2*), anti-survivin – utišanje gena za survivin, HSV-tk – timidinska kinaza virusa herpes simpleks (angl. *herpes simplex virus thymidine kinase*), CD – citozinska deaminaza, CD/HSV-tk – združen gen za citozinsko deaminazo in timidinsko kinazo virusa herpes simpleks (angl. *cytosine deaminase/herpes simplex virus thymidine kinase fusion gene*), HRP – hrenova peroksidaza (angl. *horseradish peroxidase*), IAA – indolocetna kislina (angl. *indol-3-acetic acid*), iNOS – inducibilna sintaza dušikovega oksida (angl. *inducible nitric oxide synthase*), TNF- $\alpha$  – dejavnik tumorske nekroze  $\alpha$  (angl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ), anti-VEGF – utišanje gena za žilni rastni dejavnik (angl. *vascular endothelial growth factor*), sFlt-1 – topna mačjemu McDonoughovemu sarkomu podobna tirozin kinaza 1 (angl. *soluble feline McDonough sarcoma-like tyrosine kinase 1*), anti-endoglin – utišanje gena za endoglin, IL-12 – interlevkin-12, IFN- $\alpha$  – interferon  $\alpha$ , GM-CSF – granulocitne in monocitne kolonije spodbujajoči dejavnik (angl. *granulocyte macrophage colony-stimulating factor*), PSA – za prostato specifični antigen, MAGE – gen melanomskega antigena (angl. *melanoma antigen gene*).

Strategija genske terapije	Transgeni
Zamenjava ali popravilo okvarjenih genov	p53, CTS1, anti-Bcl-2, anti-survivin
Genska kemoterapija	HSV-tk, CD, CD/HSV-tk; HRP, IAA, iNOS, TNF- $\alpha$
Žilno ciljano gensko zdravljenje	anti-VEGF, sFlt-1, anti-endoglin, TNF- $\alpha$ , IL-12
Gensko imunološko zdravljenje	IL-12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , GM-CSF, tumorski antigeni: PSA, MAGE

izkazal za škodljivega (91–93). Genski elektroprenos je tako popoln za dostavo IL-12 neposredno v novotvorbe (lokalna dostava), kar so dokazali v številnih predkliničnih raziskavah (87). Lokalna dostava IL-12 z genskim elektroprenosom je dosegla že klinično fazo preizkušanja v ZDA. V prvi klinični raziskavi na bolnikih z razsejanim melanomom so pokazali, da je pristop varen in tudi učinkovit, tako lokalno kot tudi sistemsko, saj so zabeležili celo oddaljeni učinek na nezdravljene zasevke drugje na telesu (52, 54). Pristop se zdaj razvija naprej za zdravljenje drugih tipov površinskih novotvorb in združeno s pembrolizumabom (94). Poleg tega je pristop pred kratkim od FDA pridobil položaj zdravila sirote za zdravljenje razsejanega melanoma, ki ni primeren za kirurško zdravljenje (95).

Zanimivo je, da kljub veliki učinkovitosti omenjenega pristopa IL-12 ni neposredno škodljiv za rakave celice in deluje izključno preko sprožitve in pospešitve imunskega odziva (89). Zato je genski elektroprenos IL-12 uporaben tudi za dodajanje k cepivom (43–45). Trenutno poteka kar nekaj kliničnih raziskav, v katerih

preizkušajo genski elektroprenos IL-12 za spodbujanje imunološkega odziva k cepivom za aids in hepatitis (96). Seveda pa je genski elektroprenos IL-12 ustrezen tudi kot imunološki spodbujevalec k cepljenju *in situ*.

## CEPLJENJE IN SITU Z GENSKIM ELEKTROPRENOSOM

Za uspešno cepljenje *in situ* potrebujemo lokalno ablacijsko zdravljenje, ki ga lahko opravimo z genskim elektroprenosom gena s citotoksičnim produktom. V naši raziskavi smo se odločili za gen za dejavnik tumorske nekroze  $\alpha$  (angl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* , TNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  je ime očitno dobil po sposobnosti, da povzroča nekrozo novotvorb. Kasneje so znanstveniki določili, da povzroča apoptozo rakavih celic, zdaj pa postaja jasno, da celice v prisotnosti TNF- $\alpha$  v bistvu umirajo z nekroptozo, ki je imunogena oblika programirane celične smrti. Sicer pa je TNF- $\alpha$  imunospodbujevalen citokin in je kot tak trenutno tudi v uporabi v kliničnem delu v obliki rekombinantne beljakovine (97). Poleg spodbujanja imunskega odziva ima tudi močno neposredno protirakavo delovanje preko citotoksičnega učinka na ra-



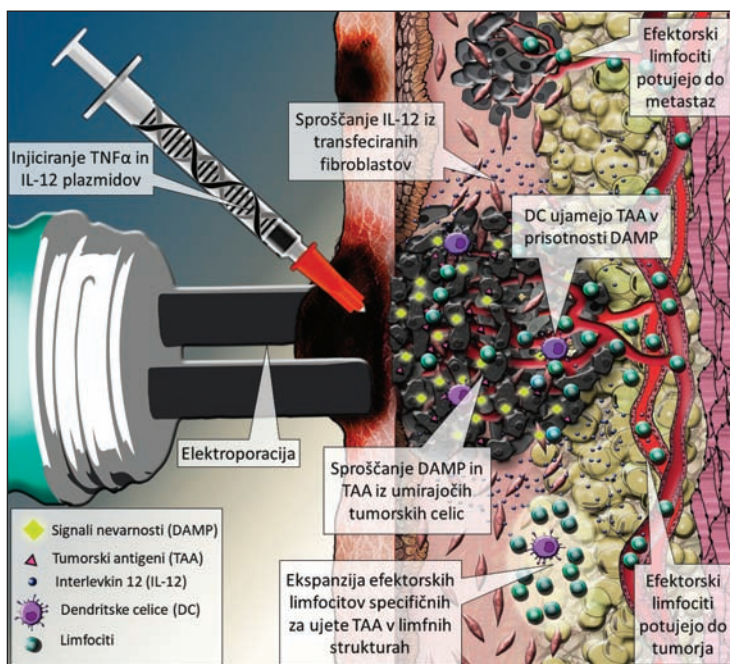
kave celice in žilnorazdiralnih učinkov (98). Sistemska dostava TNF- $\alpha$  je škodljiva, zato se trenutno rekombinantni TNF- $\alpha$  v kliničnem delu uporablja samo za izolirano perfuzijo udov za zdravljenje napredovanih rakov na okončinah (99–101). V preteklosti so preizkusili tudi že dostavo TNF- $\alpha$ , omejeno na novotvorbo z različnimi pristopi genskega zdravljenja (102, 103). Med njimi se je za najučinkovitejšega izkazal TNFerade® (GenVec Inc.), adenovirusni vektor za izražanje TNF- $\alpha$  pod nadzorom inducibilnega promoterja, ki se aktivira z radioterapijo. TNFerade® je prišel do tretje faze kliničnih raziskav za zdravljenje raka trebušne slinavke, vendar je bila njegova učinkovitost prenizka, da bi prišel v splošno klinično uporabo. Lokalna dostava v novotvorbo pa je možna tudi z genskim elektroprenosom.

Prednost genskega elektroprenosa je, da lahko vnašamo več genov hkrati (104, 105). To pomeni, da lahko hkrati s TNF- $\alpha$  vnašamo

tudi gen za spodbujevalca imunskega odziva. V naši raziskavi smo izbrali že preizkušen IL-12. Dodatna prednost uporabe genskega elektroprenosa za cepljene so imunospodbujevalni učinki same DNA, ki jo vnašamo v celice (106). Kot že omenjeno, DNA lahko deluje kot pomemben DAMP, še posebej tuja DNA. V naši raziskovalni skupini v sodelovanju s kolegi z univerze Old Dominion University v Norfolkku v ZDA namreč ugotavljamo, da gre velik del uspešnosti genskega elektroprenosa dejansko pripisati sprožitvi imunskega odziva proti vneseni tuji DNA in ne samo izražanju terapevtske beljakovine (107, 108). Poleg vnašanja tuje DNA pa sproščanje DAMP lahko povzroči že tudi sama elektroporacija (109–111).

## DOKAZ KONCEPTA

Naša hipoteza je, da lahko uspešno cepljenje *in situ* dosežemo s hkratnim elektroprenosom genov za TNF- $\alpha$  in IL-12 (slika 3).



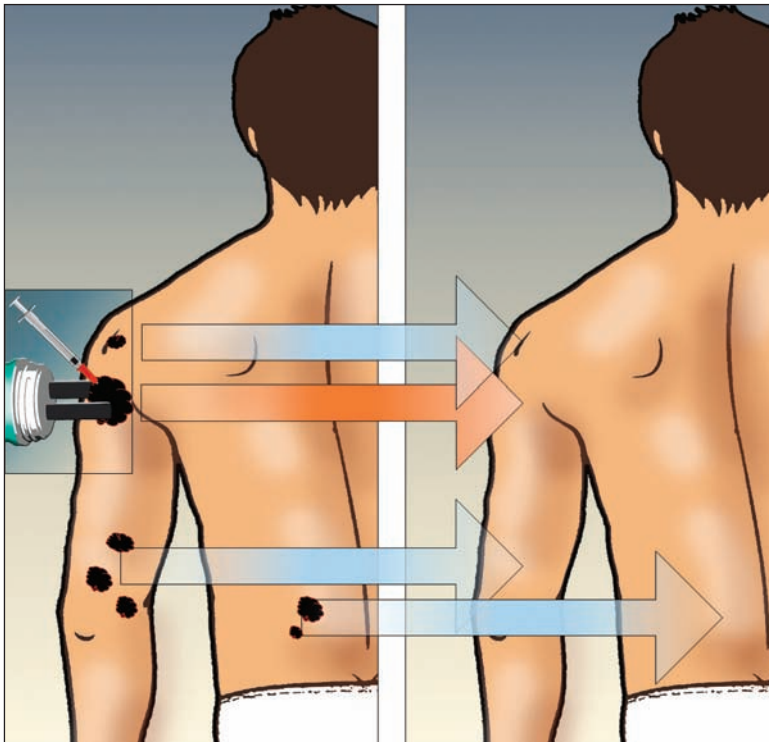
**Slika 3.** Prikaz cepljenja *in situ* s hkratnim elektroprenosom genov TNF- $\alpha$  in IL-12. DAMP – sporočevalci nevarnosti (angl. *damage-associated molecular pattern*), TAA – tumorski antigeni (angl. *tumor-associated antigens*), DC – dendritske celice, IL-12 – interleukin-12, TNF- $\alpha$  – dejavnik tumorske nekroze  $\alpha$  (angl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ).

Pri tem naj bi genski elektroenos TNF- $\alpha$  igral vlogo lokalnega ablacijskega zdravljenja, ki povzroči cepljenje *in situ* proti tumorskim antigenom, sproščenim iz ubitih celic, genski elektroenos IL-12 pa kot spodbujevalec imunskega odziva, ki sproži imunski odziv pospeši in razširi v sistemski ter trajen odziv (slika 4).

Predviden potek dogodkov po genskem elektroenosu TNF- $\alpha$  in IL-12 je prikazan na sliki 3: izražanje TNF- $\alpha$  v rakavih celicah povzroči umiranje celic z imunogeno obliko celične smrti, kar pomeni, da se hkrati sproščajo tumorski antigeni in DAMP. Tumorske antigene ujamejo dendritske celice, ki jih pritegnejo DAMP in IL-12, ki se izraža iz transfeciranih celic. Dendritske celice nato potujejo v bezgavke, kjer sprožijo namnoževanje efektorskih limfocitov proti pred-

stavljenim tumorskim antigenom. Nastale imunske celice potem po krvi potujejo v novotvorbo in v oddaljene zasevke, kjer napadejo rakave celice.

Hipotezo smo do sedaj preizkusili na mišjem tumorskem modelu melanoma (112). Rezultati so potrdili izvedljivost pristopa, saj smo v zdravljenih novotvorbah dokazali izražanje obeh citokinov, kar je povzročilo izrazit zaostanek v rasti novotvorb v zdravljeni skupini, podaljšano preživetje in skoraj 80 % popolnih ozdravitev. Sprožitev protirakavega imunskega odziva je potrdil obsežen vdor efektorskih limfocitov v zdravljene novotvorbe in namnoževanje efektorskih limfocitov v bezgavkah. Vse ozdravljene živali so tudi zavrnile nastanek novotvorb po ponovnem izzivu z rakavimi celicami 100 dni po izginotju novotvorb



**Slika 4.** Sistemski učinki po lokalnem zdravljenju. Pri bolniku z razsejano boleznijo z lokalnim zdravljenjem primarne novotvorbe sprožimo sistemski imunski odziv proti rakavih celicam in s tem uničenje zasevkov ter popolno ozdravitev bolnika.



(primerljivo petletnemu preživetju pri lju-deh), kar nakazuje na nastanek imunskega spomina. Poleg tega je pri vseh ozdravljennih miših na mestu, kjer je bila novotvorba, prišlo do razbarvanja dlake oz. vitiliga. To je lokalni avtoimunski odziv, ki je pravzaprav dokaz uspešnosti cepljenja *in situ*, saj je očitno prišlo do razširitve imunskega odziva proti rakavim celicam, ki vsebujejo veliko melanina, na normalne melanocite (113).

## ODPRTA VPRAŠANJA

Učinkovitost cepljenja *in situ* s hkratnim genskim elektroprenosom TNF- $\alpha$  in IL-12 smo torej dokazali, vendar za zdaj samo na enem tumorskem modelu, tj. mišjem melanomu. Odprto ostaja vprašanje, ali je pristop učinkovit tudi na drugih mišjih modelih raka in pa predvsem, na katere tipe človeškega raka je možen prenos tega znanja. Ker pri cepljenju *in situ* izkoriščamo lastne tumorske antigene, ima pristop načeloma možnost za učinkovitost proti različnim tipom raka.

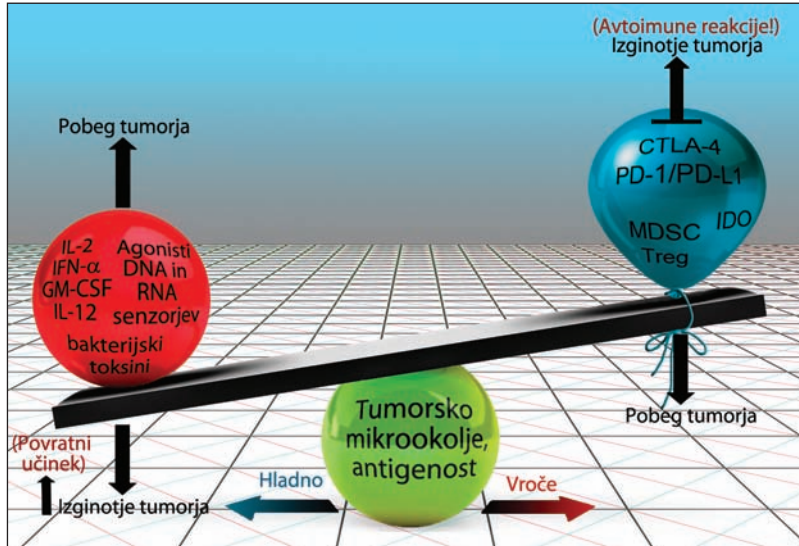
Na uspešnost imunološkega zdravljenja na splošno vpliva predvsem antigenost novotvorbe (tj. sposobnost povzročiti pridobljen imunski odziv) in njeno mikrookolje (114, 115). V zadnjem desetletju se je pojavila preprosta delitev novotvorb glede na mikrookolje v »hladne« in »vroče« na podlagi ravni vdora imunskih celic v novotvorbo, kar odraža, ali imunski sistem prepozna in se bori proti novotvorbi ali ne (116). Vroči tumorji vsebujejo veliko število imunskih celic, hladni pa malo. Vdor imunskih celic v novotvorbo je posledica njene tujosti oz. antigenosti, ki pa je odvisna od mutacijskega bremena. Novotvorbe z visokim bremenom so močno spremenjene, zato jih imunski sistem lažje zazna in vanje vdre več imunskih celic. Takšne novotvorbe lahko skozi postopek imunskega preurejanja (angl. *immunoediting*) hitro postanejo imunsko zavrte oz. sekundarno hladne (5). Po drugi strani pa so lahko novotvorbe tudi intrinzično hladne, ker imajo nizko mutacij-

sko breme in jih imunski sistem niti ne zazna. Zapletena je tudi določitev antigenosti novotvorbe, ki ne vključuje samo mutacijskega bremena, ampak tudi morebitne spremembe, ki so skozi proces imunskega preurejanja naredile novotvorbo manj antigeno. Najbolj znana prilagoditev visoko mutiranih novotvorb je npr. zmanjšano izražanje poglavitnega kompleksa tkivne skladnosti razreda 1 (angl. *major histocompatibility complex class 1*, MHC 1) na rakavih celicah in s tem skrivanje mutiranih antigenov, t. i. neoantigenov, pred imunskim sistemom (117).

Z zdravljenjem, kot je cepljenje *in situ*, ki izkorišča lastne tumorske antigene, tako ne moremo pozdraviti novotvorb, ki so intrinzično hladne. Primerna pa je za novotvorbe z velikim številom neoantigenov. Če takšna novotvorba ne vsebuje veliko imunskih celic, je smiselno dodati spodbujevalce imunskega odziva. Če pa novotvorba z velikim številom neoantigenov vsebuje malo imunskih celic, ker je očitno že postala sekundarno hladna, je smiselno združeno zdravljenje z zaviralci imunskih kontrolnih točk (slika 5) (118). S podobnimi dvomi se zdravniki soočajo tudi pri ostalih pristopih imunološkega zdravljenja. Danes se zato veliko pozornosti na področju imunoonkologije namenja iskanju ustreznih napovednih dejavnikov, ki bodo onkologom v pomoč pri odločanju o zdravljenju (119).

## ZAKLJUČEK

Cepljenje *in situ* je oblika terapevtskega cepljenja, pri kateri izkoristimo bolniku lastne tumorske antigene, tako da z zdravljenjem sprožimo imunski odziv neposredno v novotvorbi. Na Oddelku za eksperimentalno onkologijo smo predlagali in tudi dokazali, da lahko cepljenje *in situ* dosežemo z genskim elektroprenosom TNF- $\alpha$  in IL-12, kjer TNF- $\alpha$  igra vlogo lokalnega ablacijskega zdravljenja, ki povzroči cepljenje *in situ* proti tumorskim antigenom, sproščnim iz ubitih rakavih celic, genski elektro-



**Slika 5.** Izbor imunološkega zdravljenja glede na vrsto novotvorbe (111). IL-2 – interlevkin-2, IFN- $\alpha$  – interferon  $\alpha$ , GM-CSF – granulocitne in monocitne kolonije spodbujajoči dejavnik (angl. *granulocyte macrophage colony-stimulating factor*), IL-12 – interlevkin-12, CTLA-4 – antigen citotoksičnih limfocitov T 4 (angl. *cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*), PD-1 – beljakovina programirane celične smrti 1 (angl. *programmed cell death protein 1*), PD-L1 – ligand beljakovine programirane celične smrti 1 (angl. *programmed cell death protein ligand 1*), IDO – indolamin 2,3-dioksigenaza, MDSC – mieloidne zaviralne celice (angl. *myeloid-derived suppressor cells*), Treg – regulatorni limfocit T (angl. *regulatory T-cells*).

prenos IL-12 pa je spodbujevalec imunskega odziva, ki že sproženi imunski odziv pospeši in razširi v sistemski ter trajen odziv.

Genski elektrotransnos je najuspešnejši način lokalnega vnosa genov, zapisanih na plazmidih, *in vivo*, ki se hitro približuje klinični uporabi (54). Uporaben je tako za cepljenje kot tudi lokalno ciljanje zaradi prostorske natančnosti, ki jo zagotavlja elektroporacija. Slednja ima že dolgo zgodovino klinične uporabe v elektrokemoterapiji (32). Plazmide je po drugi strani treba šele vpejljati v klinično uporabo, pri čemer moramo upoštevati stroge zahteve nadzornih agencij. Pripraviti moramo plazmide brez genov za odpornost proti antibiotikom in pripravljeni morajo biti v pogojih t. i. dobre proizvodne prakse. Zato želimo v naši raziskovalni skupini v sodelovanju z drugimi slovenskimi znanstveniki in industrijo ustvariti ploščad za prenos znanja, ki bo povezovala strokovnjake z različnih področij: strokovnjake, ki

načrtujejo nove plazmide, strokovnjake, ki proizvajajo te plazmide v klinični kakovosti, strokovnjake, ki načrtujejo elektroporatorje, in strokovnjake, ki vse to preizkušajo v predkliničnih raziskavah. Naš skupen cilj bo pripeljati pristop do klinične uporabe, kjer bomo lahko z lokalnim zdravljenjem primarne novotvorbe sprožili sistemski imunski odziv proti rakavim celicam in s tem uničenje zasevkov ter popolno ozdravitev bolnika (slika 4).

## VIRI FINANCIRANJA

Raziskave so bile izvedene v okviru projekta J3-4259, ki ga financira Javna agencija za raziskovalno dejavnost republike Slovenije v sklopu programa P3-0003. Delo je potekalo v sklopu LEA-EBAM (Francosko-slovenski združeni evropski laboratorij za aplikacije pulznih električnih polj v biologiji in medicini). Naložbo sta sofinancirala Republika Slovenija in Evropski sklad za regionalni razvoj.

## LITERATURA

1. Mehlen P, Puisieux A. Metastasis: a question of life or death. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6 (6): 449–58.
2. Boon T, Cerottini JC, Van den Eynde B, et al. Tumor antigens recognized by T lymphocytes. *Annu Rev Immunol*. 1994; 12 (1): 337–65.
3. Gonzalez H, Hagerling C, Werb Z. Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression. *Genes Dev*. 2018; 32 (19–20): 1267–84.
4. Young JL, Dean DA. Electroporation-mediated gene delivery. *Adv Genet*. 2015; 89: 49–88.
5. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*. 2004; 21 (2): 137–48.
6. Prestwich RJ, Errington F, Hatfield P, et al. The immune system – is it relevant to cancer development, progression and treatment? *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2008; 20 (2): 101–12.
7. Ochslein AF. Immunological ignorance of solid tumors. *Springer Semin Immunopathol*. 2005; 27 (1): 19–35.
8. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2011; 480 (7378): 480–9.
9. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*. 2017; 541 (7637): 321–30.
10. Galluzzi L, Vacchelli E, Bravo-San Pedro JM, et al. Classification of current anticancer immunotherapies. *Onco-target*. 2014; 5 (24): 12472–508.
11. Tang J, Shalabi A, Hubbard-Lucey VM. Comprehensive analysis of the clinical immuno-oncology landscape. *Ann Oncol*. 2018; 29 (1): 84–91.
12. European Medicines Agency: First two CAR-T cell medicines recommended for approval in the European Union: development of Kymriah and Yescarta supported through PRIME [internet]. 2018 [citirano 2018 Dec 6]. Dosegljivo na: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/press-release/first-two-car-t-cell-medicines-recommended-approval-european-union\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/press-release/first-two-car-t-cell-medicines-recommended-approval-european-union_en.pdf)
13. Zitvogel L, Kroemer G. Introduction: the immune response against dying cells. *Curr Opin Immunol*. 2008; 20 (5): 501–3.
14. den Brok MH, Suttmuller RP, van der Voort R, et al. In situ tumor ablation creates an antigen source for the generation of antitumor immunity. *Cancer Res*. 2004; 64 (11): 4024–9.
15. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Cancer is not just a disease of a tissue: it is a host disease. How to reactivate host defense against tumors using conventional therapies of cancer? *Ann Endocrinol*. 2008; 69 (2): 151–2.
16. Tesniere A, Apetoh L, Ghiringhelli F, et al. Immunogenic cancer cell death: a key-lock paradigm. *Curr Opin Immunol*. 2008; 20 (5): 504–11.
17. Ghiringhelli F, Apetoh L, Housseau F, et al. Links between innate and cognate tumor immunity. *Curr Opin Immunol*. 2007; 19 (2): 224–31.
18. Kepp O, Senovilla L, Vitale I, et al. Consensus guidelines for the detection of immunogenic cell death. *Oncoimmunol*. 2014; 3 (9): e955691.
19. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Molecular interactions between dying tumor cells and the innate immune system determine the efficacy of conventional anticancer therapies. *Cancer Res*. 2008; 68 (11): 4026–30.
20. He S, Mao X, Sun H, et al. Potential therapeutic targets in the process of nucleic acid recognition: opportunities and challenges. *Trends Pharmacol Sci*. 2015; 36 (1): 51–64.
21. Jounai N, Kobiyama K, Takeshita F, et al. Recognition of damage-associated molecular patterns related to nucleic acids during inflammation and vaccination. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013; 2: 168.
22. Dempsey A, Bowie AG. Innate immune recognition of DNA: a recent history. *Virology*. 2015; 479–80: 146–52.
23. Deplanque G, Shabafrouz K, Obeid M. Can local radiotherapy and IL-12 synergise to overcome the immunosuppressive tumor microenvironment and allow »in situ tumor vaccination«? *Cancer Immunol Immunother*. 2017; 66 (7): 833–40.
24. Pierce RH, Campbell JS, Pai SI, et al. In-situ tumor vaccination: bringing the fight to the tumor. *Hum Vaccines Immunother*. 2015; 11 (8): 1901–9.
25. Serša G, Teissie J, Čemažar M, et al. Electrochemotherapy of tumors as in situ vaccination boosted by immunogene electrotransfer. *Cancer Immunol Immunother*. 2015; 64 (10): 1315–27.
26. Stevenson FK, Ottensmeier CH, Rice J. DNA vaccines against cancer come of age. *Curr Opin Immunol*. 2010; 22 (2): 264–70.

27. Jacobs JJ, Snackey C, Geldof AA, et al. Inefficacy of therapeutic cancer vaccines and proposed improvements. Casus of prostate cancer. *Anticancer Res.* 2014; 34 (6): 2689–700.
28. Hammerich L, Binder A, Brody JD. In situ vaccination: cancer immunotherapy both personalized and off-the-shelf. *Mol Oncol.* 2015; 9 (10): 1966–81.
29. Bartlett DL, Liu Z, Sathiah M, et al. Oncolytic viruses as therapeutic cancer vaccines. *Mol Cancer.* 2013; 12 (1): 103.
30. Nierkens S, den Brok MH, Ruers TJ, et al. Radiofrequency ablation in cancer therapy: tuning in to *in situ* tumor vaccines. In: Keisari Y, ed. *Tumor ablation: effects on systemic and local anti-tumor immunity and on other tumor-microenvironment interactions.* Dordrecht: Springer Netherlands; 2013. p. 39–59.
31. Miklavčič D, Mali B, Kos B, et al. Electrochemotherapy: from the drawing board into medical practice. *Biomed Eng Online.* 2014; 13 (1): 29.
32. Campana LG, Miklavčič D, Bertino G, et al. Electrochemotherapy of superficial tumors –current status: basic principles, operating procedures, shared indications, and emerging applications. *Semin Oncol.* 2019; 46 (2): 173–91.
33. Kotnik T, Rems L, Tarek M, et al. Membrane electroporation and electropermeabilization: mechanisms and models. *Annu Rev Biophys.* 2019; 48: 63–91.
34. Serša G, Miklavčič D, Čemažar M, et al. Electrochemotherapy with CDDP on LPB sarcoma: comparison of the anti-tumor effectiveness in immunocompetent and immunodeficient mice. *Bioelectrochem Bioenerg.* 1997; 43 (2): 279–83.
35. Roux S, Bernat C, Al-Sakere B, et al. Tumor destruction using electrochemotherapy followed by CpG oligodeoxynucleotide injection induces distant tumor responses. *Cancer Immunol Immunother.* 2008; 57 (9): 1291–300.
36. Gerlini G, Sestini S, Di Gennaro P, et al. Dendritic cells recruitment in melanoma metastasis treated by electrochemotherapy. *Clin Exp Metastasis.* 2013; 30 (1): 37–45.
37. Mali B, Jarm T, Snoj M, et al. Antitumor effectiveness of electrochemo-therapy: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2013; 39 (1): 4–16.
38. Wennerberg E, Lhuillier C, Vanpouille-Box C, et al. Barriers to radiation-induced *in situ* tumor vaccination. *Front Immunol.* 2017; 8 (10): 229.
39. Rödel F, Frey B, Multhoff G, et al. Contribution of the immune system to bystander and non-targeted effects of ionizing radiation. *Cancer Lett.* 2015; 356 (1): 105–13.
40. Reynders K, Illidge T, Siva S, et al. The abscopal effect of local radiotherapy: using immunotherapy to make a rare event clinically relevant. *Cancer Treat Rev.* 2015; 41 (6): 503–10.
41. Lim YT. Vaccine adjuvant materials for cancer immunotherapy and control of infectious disease. *Clin Exp Vaccine Res.* 2015; 4 (1): 54–8.
42. Lasek W, Zagodzón R, Jakobiński M. Interleukin 12: still a promising candidate for tumor immunotherapy? *Cancer Immunol Immunother.* 2014; 63 (5): 419–35.
43. Jacobson JM, Zheng L, Wilson CC, et al. The safety and immunogenicity of an interleukin-12-enhanced multiantigen DNA vaccine delivered by electroporation for the treatment of HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016; 71 (2): 163–71.
44. Fournillier A, Frelin L, Jacquier E, et al. A heterologous prime/boost vaccination strategy enhances the immunogenicity of therapeutic vaccines for hepatitis C virus. *J Infect Dis.* 2013; 208 (6): 1008–19.
45. Jalah R, Patel V, Kulkarni V, et al. IL-12 DNA as molecular vaccine adjuvant increases the cytotoxic T cell responses and breadth of humoral immune responses in SIV DNA vaccinated macaques. *Hum Vaccines Immunother.* 2012; 8 (11): 1620–9.
46. Kumar SR, Markusic DM, Biswas M, et al. Clinical development of gene therapy: results and lessons from recent successes. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2016; 3: 16034.
47. Dunbar CE, High KA, Joung JK, et al. Gene therapy comes of age. *Science.* 2018; 359 (6372): 4672.
48. Elsabahy M, Nazarali A, Foldvari M. Non-viral nucleic acid delivery: key challenges and future directions. *Curr Drug Deliv.* 2011; 8 (3): 235–44.
49. Rosazza C, Haber Meglič S, Zumbusch A, et al. Gene electrotransfer: a mechanistic perspective. *Curr Gene Ther.* 2016; 16 (2): 98–129.
50. Gothelf A, Gehl J. Electroporation-based DNA delivery technology: methods for gene electrotransfer to skin. *Methods Mol Biol.* 2014; 1143: 115–22.
51. Lambricht L, Lopes A, Kos S, et al. Clinical potential of electroporation for gene therapy and DNA vaccine delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2016; 13 (2): 295–310.

52. Daud AI, DeConti RC, Andrews S, et al. Phase I trial of interleukin-12 plasmid electroporation in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol*. 2008; 26 (36): 5896–903.
53. Cha E, Daud A. Plasmid IL-12 electroporation in melanoma. *Hum Vaccin Immunother*. 2012; 8 (11): 1734–8.
54. Canton DA, Shirley S, Wright J, et al. Melanoma treatment with intratumoral electroporation of tavokinogene telseplasmid (pLL-12, tavokinogene telseplasmid). *Immunotherapy*. 2017; 9 (16): 1309–21.
55. Trimble CL, Morrow MP, Kraynyak KA, et al. Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, a therapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. *Lancet*. 2015; 386 (10008): 2078–88.
56. Vasan S, Hurley A, Schlesinger SJ, et al. In vivo electroporation enhances the immunogenicity of an HIV-1 DNA vaccine candidate in healthy volunteers. *PLoS One*. 2011; 6 (5): e19252.
57. Tolmachov O. Designing plasmid vectors. *Methods Mol Biol*. 2009; 542: 117–29.
58. Husain SR, Han J, Au P, et al. Gene therapy for cancer: regulatory considerations for approval. *Cancer Gene Ther*. 2015; 22 (12): 554–63.
59. Vandermeulen G, Marie C, Scherman D, et al. New generation of plasmid backbones devoid of antibiotic resistance marker for gene therapy trials. *Mol Ther*. 2011; 19 (11): 1942–9.
60. Mignon C, Sodoyer R, Werle B. Antibiotic-free selection in biotherapeutics: now and forever. *Pathogens*. 2015; 4 (2): 157–81.
61. Solensky R. Hypersensitivity reactions to beta-lactam antibiotics. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2003; 24 (3): 201–19.
62. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products [internet]. 2018 [citirano 2018 Dec 6]. Dosegljivo na: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products_en.pdf)
63. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for industry: considerations for plasmid DNA vaccines for infectious disease indications. *Biotechnol Law Rep*. 2007; 26 (6): 641–8.
64. Cranenburgh RM, Hanak JA, Williams SG, et al. *Escherichia coli* strains that allow antibiotic-free plasmid selection and maintenance by repressor titration. *Nucleic Acids Res*. 2001; 29 (5): 26.
65. Cranenburgh RM. Operator-repressor titration: stable plasmid maintenance without selectable marker genes. In: Schleef M, ed. *Minicircle and miniplasmid DNA vectors: the future of nonviral and viral gene transfer*. New Jersey: Wiley; 2013. p. 7–21.
66. Spanggaard I, Snoj M, Cavalcanti A, et al. Gene electrotransfer of plasmid antiangiogenic metargidin peptide (AMEP) in disseminated melanoma: safety and efficacy results of a phase I first-in-man study. *Hum Gene Ther Clin Dev*. 2013; 24 (3): 99–107.
67. Kamenšek U, Tešić N, Serša G, et al. Constructing clinically applicable plasmids for cancer gene therapy. In: Jarm T, Kramar P, eds. *1st World congress on electroporation and pulsed electric fields in biology, medicine and food & environmental technologies*. Vol 53. Singapur: Springer; 2016. p. 313–6.
68. Kamenšek U, Tešić N, Serša G, et al. Tailor-made fibroblast-specific and antibiotic-free interleukin 12 plasmid for gene electrotransfer-mediated cancer immunotherapy. *Plasmid*. 2017; 89: 9–15.
69. Tešić N, Kamenšek U, Serša G, et al. Evaluation of smooth muscle  $\gamma$  actin promoter suitability for tissue-specific gene delivery of interleukin-12. In: Jarm T, Kramar P, eds. *1st World congress on electroporation and pulsed electric fields in biology, medicine and food & environmental technologies*. Vol 53. Singapur: Springer; 2016. p. 317–20.
70. Kamenšek U, Tešić N, Serša G, et al. Clinically usable interleukin 12 plasmid without an antibiotic resistance gene: functionality and toxicity study in murine melanoma model. *Cancers*. 2018; 10 (3): 60.
71. Lamprecht Tratar U, Kos S, Kamenšek U, et al. Antitumor effect of antibiotic resistance gene-free plasmids encoding interleukin-12 in canine melanoma model. *Cancer Gene Ther*. 2018; 25 (9–10): 260–73.
72. Hornstein BD, Roman D, Arévalo-Soliz LM, et al. Effects of circular DNA length on transfection efficiency by electroporation into HeLa cells. *PLoS One*. 2016; 11 (12): e0167537
73. Sum CH, Wettig S, Slavev RA. Impact of DNA vector topology on non-viral gene therapeutic safety and efficacy. *Curr Gene Ther*. 2014; 14 (4): 309–29.
74. Brooks AR, Harkins RN, Wang PY, et al. Transcriptional silencing is associated with extensive methylation of the CMV promoter following adenoviral gene delivery to muscle. *J Gene Med*. 2004; 6 (4): 395–404.
75. Kamenšek U, Serša G, Vidic S, et al. Irradiation, cisplatin and 5-azacytidine up-regulate cytomegalovirus promoter in tumors and muscles: implementation of noninvasive fluorescence imaging. *Mol Imaging Biol*. 2011; 13 (1): 43–52.

76. Gill DR, Pringle IA, Hyde SC. Progress and prospects: the design and production of plasmid vectors. *Gene Ther.* 2009; 16 (2): 165–71.
77. Scott SD, Joiner MC, Marples B. Optimizing radiation-responsive gene promoters for radiogenetic cancer therapy. *Gene Ther.* 2002; 9 (20): 1396–402.
78. Robson T, Hirst DG. Transcriptional targeting in cancer gene therapy. *J Biomed Biotechnol.* 2003; 2003 (2): 110–37.
79. Hallahan DE, Mauceri HJ, Seung LP, et al. Spatial and temporal control of gene therapy using ionizing radiation. *Nat Med.* 1995; 1 (8): 786–91.
80. Kos S, Tešič N, Kamenšek U, et al. Improved specificity of gene electrotransfer to skin using pDNA under the control of collagen tissue-specific promoter. *J Membr Biol.* 2015; 248 (5): 919–28.
81. Kamenšek U, Serša G. Targeted gene therapy in radiotherapy. *Radiol Oncol.* 2008; 42 (3): 115–35.
82. Kamenšek U, Serša G, Čemažar M. Evaluation of p21 promoter for interleukin 12 radiation induced transcriptional targeting in a mouse tumor model. *Mol Cancer.* 2013; 12 (1): 136.
83. Tüting T, Storkus WJ, Lotze MT. Gene-based strategies for the immunotherapy of cancer. *J Mol Med.* 1997; 75 (7): 478–91.
84. Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science.* 2018; 359 (6382): 1350–5.
85. Rosenberg SA. Immunotherapy and gene therapy of cancer. *Cancer Res.* 1991; 51 (18): 5074–9.
86. Yamashita YI, Shimada M, Hasegawa H, et al. Electroporation-mediated interleukin-12 gene therapy for hepatocellular carcinoma in the mice model. *Cancer Res.* 2001; 61 (3): 1005–12.
87. Čemažar M, Jarm T, Serša G. Cancer electrogene therapy with interleukin-12. *Curr Gene Ther.* 2010; 10 (4): 300–11.
88. Trinchieri G. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. *Annu Rev Immunol.* 1995; 13: 251–76.
89. Tugues S, Burkhard SH, Ohs I, et al. New insights into IL-12-mediated tumor suppression. *Cell Death Differ.* 2015; 22 (2): 237–46.
90. Jinushi M, Tahara H. Cytokine gene-mediated immunotherapy: current status and future perspectives. *Cancer Sci.* 2009; 100 (8): 1389–96.
91. Cohen J. IL-12 deaths: explanation and a puzzle. *Science.* 1995; 270 (5238): 908.
92. Lotze MT, Zitvogel L, Campbell R, et al. Cytokine gene therapy of cancer using interleukin-12: murine and clinical trials. *Ann N Y Acad Sci.* 1996; 795: 440–54.
93. Leonard JP, Sherman ML, Fisher GL, et al. Effects of single-dose interleukin-12 exposure on interleukin-12-associated toxicity and interferon-gamma production. *Blood.* 1997; 90 (7): 2541–8.
94. ClinicalTrials.gov: interleukin 12 electroporation | cancer [internet]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine [citirano 2018 Dec 6]. Dosegljivo na: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=interleukin+12+electroporation&cond=cancer>
95. Immuno-oncology news: Metastatic melanoma therapy candidate ImmunoPulse IL-12 wins FDA orphan drug status [internet]. Philadelphia: Immuno-Oncology News; c2013–2020 [citirano 2018 Dec 6]. Dosegljivo na: <https://immuno-oncologynews.com/2017/06/13/oncosecs-metastatic-melanoma-therapy-candidate-pil-12-granted-fda-orphan-drug-status/>
96. ClinicalTrials.gov: Interleukin 12 electroporation vaccine [internet]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine [citirano 2018 Dec 6]. Dosegljivo na: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=interleukin+12+electroporation+vaccin&cntry=&state=&city=&dist=>
97. van Horssen R, Ten Hagen TL, Eggermont AM. TNF-alpha in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility. *Oncologist.* 2006; 11 (4): 397–408.
98. Roberts NJ, Zhou S, Diaz LA Jr, et al. Systemic use of tumor necrosis factor alpha as an anticancer agent. *Oncotarget.* 2011; 2 (10): 739–51.
99. Hoekstra HJ, Veerman K, van Ginkel RJ. Isolated limb perfusion for in-transit melanoma metastases: melphalan or TNF-melphalan perfusion? *J Surg Oncol.* 2014; 109 (4): 338–47.
100. van Ginkel RJ, Thijssens KMJ, Pras E, et al. Isolated limb perfusion with tumor necrosis factor alpha and melphalan for locally advanced soft tissue sarcoma: three time periods at risk for amputation. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14 (4): 1499–506.
101. Hayes AJ, Neuhaus SJ, Clark MA, et al. Isolated limb perfusion with melphalan and tumor necrosis factor alpha for advanced melanoma and soft-tissue sarcoma. *Ann Surg Oncol.* 2007; 14 (1): 230–8.
102. Herman JM, Wild AT, Wang H, et al. Randomized phase III multi-institutional study of TNFerade biologic with fluorouracil and radiotherapy for locally advanced pancreatic cancer: final results. *J Clin Oncol.* 2013; 30 (15): 886–94.

103. Hernandez J, Cooper J, Babel N, et al. TNFAlpha gene delivery therapy for solid tumors. *Expert Opin Biol Ther.* 2010; 10 (6): 993–9.
104. Qin W, Dion SL, Kutny PM, et al. Efficient CRISPR/Cas9-mediated genome editing in mice by zygote electroporation of nuclease. *Genetics.* 2015; 200 (2): 423–30.
105. Lambrecht L, Vanvarenberg K, De Beuckelaer A, et al. Coadministration of a plasmid encoding HIV-1 gag enhances the efficacy of cancer DNA vaccines. *Mol Ther.* 2016; 24 (9): 1686–96.
106. Herrada AA, Rojas-Colonelli N, Gonzalez-Figueroa P, et al. Harnessing DNA-induced immune responses for improving cancer vaccines. *Hum Vaccin Immunother.* 2012; 8 (11): 1682–93.
107. Bošnjak M, Jesenko T, Kamenšek U, et al. Electrotransfer of different control plasmids elicits different antitumor effectiveness in B16.F10 melanoma. *Cancers.* 2018; 10 (2): 37.
108. Kamenšek U, Rols MP, Čemažar M, et al. Visualization of nonspecific antitumor effectiveness and vascular effects of gene electro-transfer to tumors. *Curr Gene Ther.* 2016; 16 (2): 90–7.
109. Rols MP, Teissié J. Electroporability of mammalian cells. Quantitative analysis of the phenomenon. *Biophys J.* 1990; 58 (5): 1089–98.
110. Calvet CY, Famin D, André FM, et al. Electrochemotherapy with bleomycin induces hallmarks of immunogenic cell death in murine colon cancer cells. *Oncoimmunology.* 2014; 3 (4): e28131.
111. Kamenšek U, Kos S, Serša G. Adjuvant immunotherapy as a tool to boost effectiveness of electrochemotherapy. In: Miklavčič D, ed. *Handbook of electroporation.* Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 1–16.
112. Kamenšek U, Čemažar M, Lamprecht Tratar U, et al. Antitumor in situ vaccination effect of TNF $\alpha$  and IL-12 plasmid DNA electrotransfer in a murine melanoma model. *Cancer Immunol Immunother.* 2018; 67 (5): 785–95.
113. Teulings H, Limpens J, Jansen SN, et al. Vitiligo-like depigmentation in patients with stage III-IV melanoma receiving immunotherapy and its association with survival: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2015; 33 (7): 773–81.
114. Whiteside TL. Immune responses to malignancies. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125 (2): 272–83.
115. Blank CU, Haanen JB, Ribas A, et al. Cancer immunology: the »cancer immunogram«. *Science.* 2016; 352 (6286): 658–60.
116. Galon J, Mlecnik B, Bindea G, et al. Towards the introduction of the »Immunoscore« in the classification of malignant tumours. *J Pathol.* 2014; 232 (2): 199–209.
117. Becker JC, Andersen MH, Schrama D, et al. Immune-suppressive properties of the tumor microenvironment. *Cancer Immunol Immunother.* 2013; 62 (7): 1137–48.
118. Makkouk A, Weiner GJ. Cancer immunotherapy and breaking immune tolerance: new approaches to an old challenge. *Cancer Res.* 2015; 75 (1): 5–10.
119. Insight from Dana-Farber cancer institute: Enhancing Immunotherapy: the race to make cold tumors hot [internet]. Boston: Dana-Farber Cancer Institute; 2018 [citirano 2018 Dec 12]. Dosegljivo na: <https://blog.dana-farber.org/insight/2018/06/enhancing-immunotherapy-race-make-cold-tumors-hot/>





Maša Skelin Klemen<sup>1</sup>

# Prevajanje akcijskega potenciala po živčnem vlaknu

## *Conduction of the Action Potential Along the Nerve Fiber*

### IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: akcijski potencial, hitrost prevajanja, mielinizacija, dolžinska konstanta, časovna konstanta

Osnovna naloga aksonov, ki lahko v dolžino merijo tudi več kot en meter, je prenos informacije na daljše razdalje. Dražljaj sproži tok ionov preko membrane, kar povzroči spremembo v membranskem potencialu. Ta se ne zgodi samo na mestu toka ionov preko membrane, temveč tudi na bolj oddaljenih mestih na membrani. Temu pravimo pasivno oz. elektrotonično širjenje potenciala. Vendar sprememba potenciala na bolj oddaljenem mestu po amplitudi ni enaka spremembi potenciala na mestu nastanka dražljaja, temveč ta eksponentno pada z razdaljo od mesta nastanka električnega toka. Kako hiter je ta padec, je odvisno od električnih lastnosti živčnega vlakna. Izkaže se, da živčna vlakna večjega premera hitreje prenašajo informacijo in da k hitrejšemu prenosu prispeva tudi izolacija živčnega vlakna v obliki mielinizacije. Pri ljudeh z demielinizacijskimi boleznimi, kot je npr. multipla skleroza, je prevajanje dražljajev upočasnjeno. Ker je za nastanek in prenos dražljaja po živčnem vlaknu ključno odpiranje napetostno odvisnih kanalov, lahko s farmakološko blokado teh kanalov prekinemo prevajanje dražljaja. Na tem mehanizmu temelji delovanje lokalnih anestetikov.

### ABSTRACT

KEY WORDS: action potential, conduction velocity, myelination, length constant, time constant

The primary role of axons, which can be more than one meter long, is the propagation of signals over a long distance. Stimulus triggers ion flow through the membrane causing change in membrane potential. This does not happen only at the point of the stimulus but also at the adjacent sections of the membrane, which is called passive or electrotonic potential. The amplitude of the membrane potential change at a more distant site is not the same as at the site of the stimulus, but decreases with distance. The rate of amplitude decline depends on the electrical properties of the nerve fiber. It turns out that nerve fibers of larger diameter have higher conduction velocity. Furthermore, insulation of nerve fibers by myelination also contributes to faster transmission. In humans with demyelinating diseases, such as multiple sclerosis, the conduction velocity is decreased. Since voltage-dependent ion channels are crucial for the generation and propagation of stimulus, the pharmacological blockage of these channels can interrupt the propagation of the stimulus, which is the mode of action of local anaesthetics.

<sup>1</sup> Doc. dr. Maša Skelin Klemen, dr. vet. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor; masa.skelin@um.si

## UVOD

Kadar kot odgovor na dražljaj nastane posinaptični, receptorski ali akcijski potencial (AP), se napetost na membrani ( $V_m$ ) stalno spreminja. Kaj določa hitrost spremembe potenciala in kako se ta sprememba širi po živčnem vlaknu? Ali kratkotrajen tok ionov enake amplitude preko membrane zmeraj povzroči enako spremembo v potencialu, neodvisno od velikosti celice? To je nekaj vprašanj, na katera bomo poskušali odgovoriti v tem članku.

## CELIČNA MEMBRANA KOT UPORNIK IN KONDENZATOR

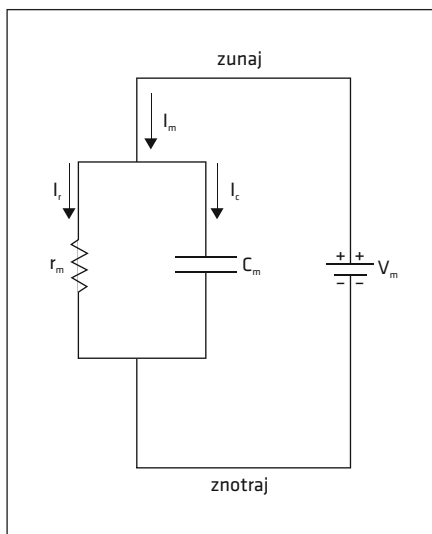
Če želimo razumeti, na kakšen način se zgodi sprememba v potencialu preko membrane in kako se ta sprememba širi po membrani, moramo najprej pogledati lastnosti celične membrane v jeziku elektrotehnike.

Plazemsko membrano sestavlja fosfolipidni dvosloj, ki je zelo dober izolator. Zato ne preseneča že dobro znano dejstvo, da nabiti delci (ioni) preko membrane ne morejo enostavno prehajati. V elektrotehniški terminologiji pravimo, da membrana deluje kot upornik in kondenzator, kar imenujemo RC-vezje (slika 1) (1). Ta model celične membrane, ki ga lahko opišemo kot električno vezje, sta leta 1952 razvila angleška znanstvenika Alan Lloyd Hodgkin in Andrew Fielding Huxley (2). Danes matematični model, ki opisuje mehanizem nastanka in širjenja AP po aksonu, imenujemo Hodgkin-Huxleyjev model. Zanj sta omenjena znanstvenika leta 1963 prejela tudi Nobelovo nagrado za fiziologijo ali medicino.

Upornost membrane ( $r_m$ ) je posledica tega, da membrana ovira prehod ionov z ene strani na drugo, saj lahko ioni prehajajo preko membrane samo preko ionskih kanalov, ki se nahajajo na membrani (3). Več kot je na membrani odprtih ionskih kanalov, manjši je  $r_m$ . Delovanje membrane kot kondenzatorja pa izhaja iz dejstva, da membrana kot izolator ločuje dve plošči kondenzatorja,

kar sta v našem primeru znotraj- in zunaj-celična raztopina. Ker je fosfolipidni dvosloj zelo tanek, akumulacija nabitih delcev na eni strani membrane privlači nasprotno nabite delce na drugi strani membrane in tako povzroči nastanek električnega polja.

Poglejmo, kako se spremeni  $V_m$ , kadar preko membrane steče tok ( $I_m$ ). Slika 2 nam prikazuje odnos med  $I_m$  in  $V_m$ . Tok ionov povzroči sorazmerno in simetrično spremembo v potencialu med notranjostjo in zunanostjo celice in s tem spremembo napetosti preko membrane ( $\Delta V_m$ ). Amplituda spremembe potenciala spominja na preprost upor, vendar časovni potek spremembe ni takšen, kot je za upor značilen. Pravi upornik bi se na hitro spremembo toka odzval z enako hitro spremembo v napetosti (V); z enakim kvadratnim pulzom. Na sliki 2Č vidimo, da je sprememba v  $\Delta V_m$  počasnejša



**Slika 1.** Analogno električno vezje celice. Membrana deluje kot električno vezje, v katerega sta vzporedno vezana upornik in kondenzator. Tok preko membrane poganja razlika v potencialu med notranjostjo in zunanostjo celice (napetost membrane). Del toka teče preko upora, del preko kondenzatorja.  $I_m$  – tok preko membrane,  $I_r$  – tok preko upornika,  $I_c$  – tok preko kondenzatorja,  $r_m$  – upornik,  $C_m$  – kondenzator,  $V_m$  – napetost membrane (razlika v potencialu med notranjostjo in zunanostjo celice).

kot sprememba v  $I_m$  (slika 2A). Do tega pride, ker ima membrana lastnosti kondenzatorja. Da bi razumeli, kako kondenzator upočasnjuje spremembo v  $V$ , se spomnimo, da je  $V$  na kondenzatorju sorazmerna z nabojem ( $Q$ ), ki je shranjen na njem (enačba 1):

$$V = \frac{Q}{C} \quad (1),$$

pri čemer je  $Q$  v coloumbih in kapacitivnost ( $C$ ) v faradih. Da lahko spremenimo  $V$  na kondenzatorju, je treba dodati  $Q$  na kondenzator ali ga s kondenzatorja odvzeti (enačba 2):

$$\Delta V = \frac{\Delta Q}{C} \quad (2).$$

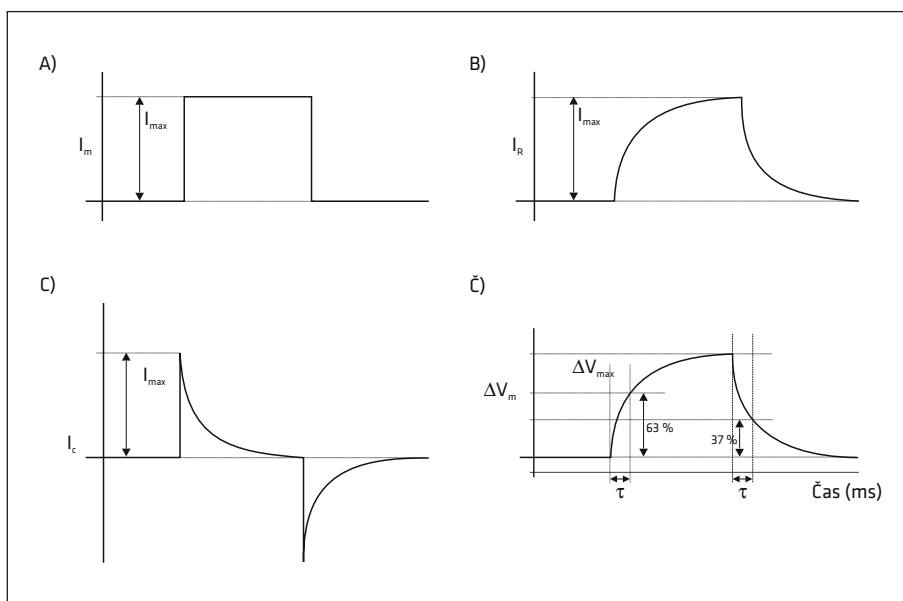
Sprememba naboja ( $\Delta Q$ ) na kondenzatorju je posledica toka na kondenzator ( $I_c$ ) v času ( $\Delta t$ ), saj velja enačba 3:

$$I_c = \frac{\Delta Q}{\Delta t} \quad (3).$$

Zato lahko spremembo napetosti ( $\Delta V$ ) na kondenzatorju izračunamo po enačbi 4:

$$\Delta V = \frac{I_c \Delta t}{C} \quad (4).$$

Amplituda  $\Delta V$  na kondenzatorju je posledica toka ionov preko kondenzatorja in je odvisna od tega, kako dolgo traja tok ionov, kajti za dodajanje ali odvzem  $Q$  s plošč kondenzatorja je potreben čas.



**Slika 2.** Na sliki vidimo, da tok preko membrane (A) povzroči spremembo v napetosti s časovnim zamikom (Č). Poleg tega se tok preko membrane razdeli na uporni tok, ki teče skozi ionske kanale (B), in kapacitivni tok, ki dodaja naboj na kondenzator in ga s tem polni (C). Tok na kondenzatorju uvodoma naraste, nato pa eksponentno pada, dokler v nekem trenutku ne prekine tokokroga. Posledično uporni tok eksponentno narašča. Zaradi kapacitivnosti membrane tudi sprememba v napetosti narašča eksponentno. Čas, v katerem napetost na kondenzatorju (in s tem napetost preko membrane) naraste do 63 % maksimalne vrednosti, predstavlja časovno konstanto. Enako velja, kadar prekinemo tok ionov preko membrane. V tem primeru čas, v katerem napetost na kondenzatorju (in s tem napetost preko membrane) pade do 37 % maksimalne vrednosti, predstavlja časovno konstanto.  $I_{max}$  - največji tok,  $I_m$  - tok preko membrane,  $I_R$  - uporni tok,  $I_c$  - kapacitivni tok,  $\Delta V_{max}$  - največja sprememba napetosti,  $\Delta V_m$  - sprememba napetosti preko membrane,  $\tau$  - časovna konstanta.

## Kapacitivnost membrane

Za določitev kapacitivnosti membrane ( $C_m$ ) so pomembne njene dimenzije in jakost električnega polja, ki ione privlači. Ker membrana predstavlja ploščat kondenzator, velja, da večja, kot je površina membrane, več  $Q$  lahko shrani pri določeni  $V$ . Vrednost  $C$  kondenzatorja je odvisna tudi od izolacijskega medija in razdalje med obema ploščama kondenzatorja, kajti z večjo razdaljo med ploščama kondenzatorja jakost električnega polja pada. Tako je  $C_m$  premo sorazmerna s površino membrane ( $A$ ) in obratno sorazmerna z njeno debelino ( $d$ ), kot kaže enačba 5:

$$C_m = \frac{A\epsilon_r}{d} \quad (5),$$

pri čemer predstavlja  $\epsilon_r$  dielektrično konstanto membrane. Vse žive celice imajo relativno konstantno  $d$  (5–10 nm), prav tako so biološke membrane sestavljene iz lipidnega dvosloja z enakimi izolacijskimi sposobnostmi, ki jih združujemo pod pojmom  $\epsilon_r$ . Zato lahko  $C$  celice izračunamo tudi z uporabo specifične kapacitivnosti na enoto površine ( $C_M$ ), ki je enaka za vse biološke membrane in znaša  $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$  (2, 4). Če predpostavimo, da je naša celica okrogla, lahko  $C_m$  takšne celice izračunamo po enačbi 6:

$$C_m = C_M(4\pi a^2) \quad (6),$$

pri čemer je  $a$  polmer celice. Ker  $C_m$  narašča z njeno  $A$ , je pri večjih živčnih vlaknih potrebno več  $Q$  in s tem več toka za enako  $\Delta V_m$  kot v živčnih vlaknih majhnega premera.  $C_m$  nam predstavlja dobro oceno same velikosti celice oz. njene  $A$ , kar s pridom izkoriščamo v elektrofiziologiji.

Sodeč po enačbi 4, bi se  $V_m$  povečevala tako dolgo, dokler bi tekla tok. V nevronih  $V_m$  naraste samo do določene vrednosti, saj membrana deluje kot vzporedno vezan upornik in kondenzator, kar je analogno elektronskemu RC-vezju celice z vzporedno vezanim upornikom in kondenzatorjem.

$I_m$  na sliki 2 se tako razdeli na tok, ki teče preko upornika ( $I_R$ ), in na tok, ki teče preko kondenzatorja, kapacitivni tok ( $I_C$ ).  $I_R$  je tok skozi ionske kanale, zato ga imenujemo tudi ionski membranski tok. Tok, ki dodaja  $Q$  na kondenzator in ga s tem polni, je  $I_C$ . Skupni  $I_m$  je tako seštevek  $I_R$  in  $I_C$  (enačba 7):

$$I_m = I_R + I_C \quad (7).$$

Vidimo, da  $I_C$  uvodoma naraste, nato pa eksponentno pada, dokler v nekem trenutku ne prekine tokokroga. Na račun  $C_m$  je sprememba v  $\Delta V_m$  počasnejša, kot bi bila v primeru, če bi imeli v tokokrog vezan samo upornik (slika 2).

## Časovna konstanta membrane

Ponovno spomnimo, da membrana deluje kot RC-vezje, v katerem sta upornik in kondenzator vezana vzporedno. Zato sta napetost na uporu ( $V_R$ ) in napetost na kondenzatorju ( $V_C$ ) zmeraj enaka kot  $\Delta V_m$ . Velja torej enačba 8:

$$\Delta V_m = V_R = V_C \quad (8).$$

$\Delta V_m$  in s tem tudi  $V_C$  sta v nekem trenutku ( $t$ ) tako enaki (enačba 9):

$$\Delta V_m(t) = V_C(t) = I_m r_m (1 - e^{-t/\tau}) \quad (9),$$

pri čemer je  $e$  osnova naravnega logaritma in  $\tau$  časovna konstanta RC-vezja. Slednjo izračunamo po enačbi 10:

$$\tau = r_m C_m \quad (10).$$

Koliko časa je potrebno, da  $V_m$  naraste do 63 % maksimalne vrednosti (ko je  $t = \tau$ , je kondenzator napolnjen  $1 - e^{-1}$  od svojega maksimuma ( $I_m \times r_m = V_m$ ) oz. do 63 %), nam pove  $\tau$ .

V splošnem velja, da bo polnjenje kondenzatorja hitrejše, če bo  $r_m$  majhna (oz.  $I_m$  večji) in če bo  $C$  kondenzatorja majhna (1). S tem bo manjši tudi  $\tau$ .

Zaradi  $C_m$  tako vsak tok ionov preko membrane povzroči  $\Delta V_m$  s časovnim zamikom. Večji kot je  $\tau$ , počasnejša je  $\Delta V_m$  in s tem je počasnejše tudi širjenje te spremembe naprej po membrani. Z drugimi besedami,  $\tau$  je obratno sorazmeren s hitrostjo prevajanja impulzov (3).

Zdaj smo si pogledali, kakšen je časovni potek  $\Delta V_m$  kadar preko membrane steče tok.  $\Delta V_m$  se lahko zgodi zaradi lokalnega toka ionov vzdolž dendrita ali aksona, kot je to značilno za pasivno oz. elektrotonično širjenje stopenjskega potenciala. Zato si v nadaljevanju pogledjmo, kako se  $\Delta V_m$  širi po membrani.

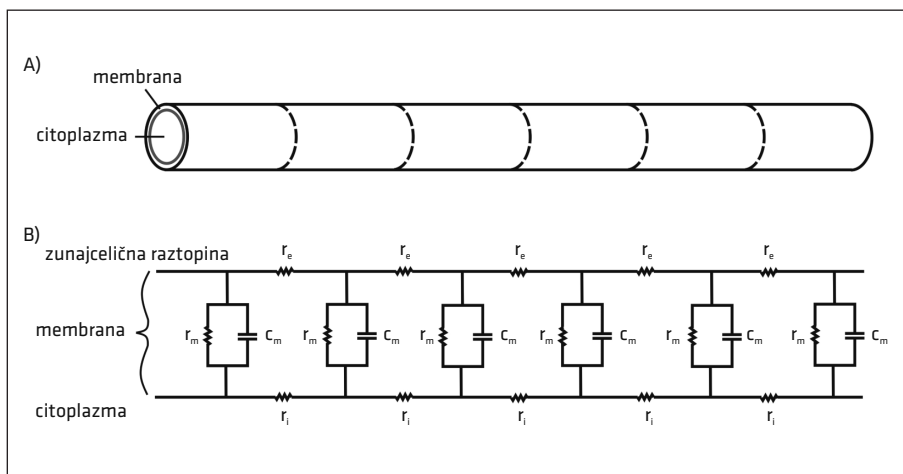
### Dolžinska konstanta membrane

Za začetek si dendrit ali akson prikažimo kot cilindar, sestavljen iz več enot, ki so med seboj ločene s črtkano črto, kot kaže slika 3A. Takšen sestavljen cilindar sedaj prikažimo v obliki električnega vezja (slika 3B). Vsaka enota cilindra ima svoj lastni tokokrog z  $r_m$  in  $C_m$ . Pri toku ionov vzdolž cilindra nam citoplazma, ki je za ione sicer mnogo bolj prevodna kot membrana, pred-

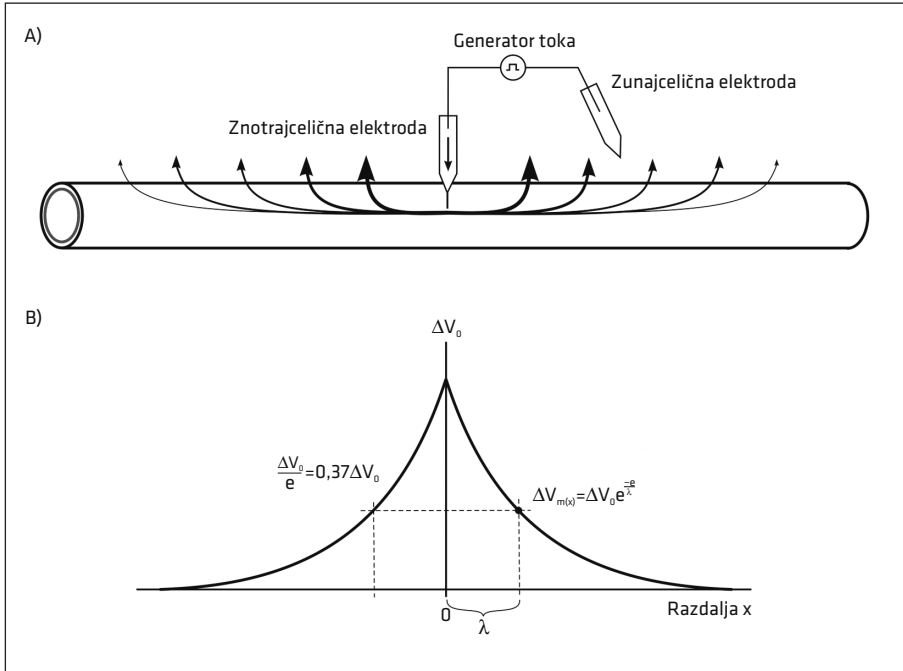
stavlja precejšen upor, saj prihaja do trkov ionov z ostalimi molekulami. Enako velja za zunajcelično raztopino. Zato so posamezne enote cilindra med seboj povezane z dvema upornikoma – to sta upor znotrajcelične tekočine ( $r_i$ ) in upor zunajcelične raztopine ( $r_e$ ).

Kako se bo torej spremenila napetost membrane vzdolž cilindra, če vanj na mestu 0 injiciramo tok, kot prikazuje slika 4? Za lažje razumevanje si predstavljamo, da tok injiciramo dovolj časa ( $t \gg \tau$ ), da membranski potencial na mestu injiciranja doseže maksimalno vrednost ( $V_0$ ) – kondenzator se napolni na 100%. Zato je na mestu, kjer smo injicirali tok,  $I_C = 0$ . Po enačbi 7 je zato  $I_m = I_R$ .

Tok, ki smo ga injicirali na mestu 0, se bo sedaj širil vzdolž cilindra in povzročil  $\Delta V_m$  tudi na sosednjem delu membrane cilindra. Z razdaljo narašča skupen upor v notranjosti cilindra (posamezni  $r_i$  se seštevajo; več je trkov z drugimi molekulami).  $r_m$  vzdolž cilindra ostaja stalen. Ker tok ionov vedno sledi manjšemu uporju, bo več toka steklo preko membrane na mestih, ki



**Slika 3.** Analogno električno vezje dendrita ali aksona. Dendrit ali akson si lahko predstavljamo kot cilindar, sestavljen iz več dolžinskih enot, ki jih loči črtkana črta (A). Analogno električno vezje cilindra. Vsaka enota cilindra predstavlja lastno električno vezje z vzporedno vezanim uporom in kondenzatorjem. Vsi tokokrogi so med seboj povezani z uporom v citoplazmi in uporom v zunajcelični raztopini (B).  $r_e$  – upor v zunajcelični tekočini,  $r_m$  – membrana kot upornik,  $C_m$  – membrana kot kondenzator,  $r_i$  – upor v citoplazmi.



**Slika 4.** Elektrotonično širjenje depolarizacije. Tok, ki ga injiciramo z generatorjem toka, teče vzdolž cilindra in elektrotonično depolarizira sosednje dele membrane. Ker tok ionov vedno sledi manjšemu uporu, bo več toka steklo preko membrane na mestih, ki so blizu točke injiciranja, kot na bolj oddaljenih mestih. Tok ionov vzdolž aksona bo tako vedno manjši, kar je ponazorjeno z vedno tanjšimi puščicami (A). Velikost spremembe napetosti vzdolž dendrita ali aksona eksponentno pada z razdaljo od mesta nastanka električnega toka. Dolžinska ali prostorska konstanta je tista razdalja od mesta nastanka električnega toka, pri kateri znaša vrednost napetosti 37 % maksimalne vrednosti (B) (3).  $\Delta V_0$  - maksimalna sprememba napetosti membrane,  $\Delta V_{m(x)}$  - sprememba napetosti membrane na razdalji  $x$ ,  $x$  - razdalja med mestom začetka spremembe napetosti membrane in merjenim mestom membrane,  $e$  - osnova naravnega logaritma,  $\lambda$  - dolžinska konstanta.

so blizu točke injiciranja, kot na bolj oddaljenih mestih. Tok ionov vzdolž aksona bo tako vedno manjši, kar na delu A slike 4, označujejo različne debeline puščic. Ker bo z razdaljo  $I_m$  vedno manjši, bo manjša tudi  $\Delta V_m$ . Ta bo na razdalji  $x$  od točke injiciranja toka tako enaka (enačba 11):

$$\Delta V_{m(x)} = \Delta V_0 e^{-\frac{x}{\lambda}} \quad (11),$$

pri čemer je sprememba potenciala v točki  $x = 0$  (v točki injiciranja toka),  $x$  razdalja od mesta injiciranja in  $\lambda$  dolžinska konstanta cilindra.

$\lambda$  nam pove, kaj se v nekem trenutku z napetostjo dogaja na neki oddaljenosti  $x$

od mesta, kjer je prišlo do spremembe v napetosti  $V_0$  (1).

Na razdalji  $x = \lambda$  je sprememba napetosti membrane enaka  $\Delta V_0 \times e^{-1}$  oz. 37 % maksimalne vrednosti  $V_0$ .  $\lambda$  je torej tista razdalja, na kateri prvotna sprememba v napetosti ( $V_0$ ) pade na 37 % začetne vrednosti. Tako nam  $\lambda$  pove, kako daleč po aksonu teče pasivni tok ionov, preden zaradi puščajoče membrane in  $r_i$  spremembe v napetosti več ne zaznamo.

Bolj kot je plazemska membrana prevodna za ione, večje bodo izgube preko membrane in manjša bo  $\lambda$  (3). Ta je torej odvisna od fizikalnih lastnosti aksona samega, zlasti od

$r_m$  in  $r_i$  aksona, pa tudi od  $r_e$ , in jo zato izračunamo po enačbi 12:

$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_i + r_e}} \quad (12).$$

Sprememba napetosti na sosednjem delu cilindra je prav tako odvisna od  $r_m$ ,  $r_i$  in  $r_e$ . Tako  $r_m$  kot  $r_i$  in  $r_e$  so mere za upornost, ki pripada 1 cm cilindra (torej enemu segmentu cilindra iz slike 3A), pri čemer je  $r_m$  podana z enoto  $\Omega\text{cm}$ ,  $r_i$  in  $r_e$  pa z enoto  $\Omega/\text{cm}$ .

V splošnem velja enačba 13:

$$r_m = \frac{R_m}{O_m} \quad (13),$$

pri čemer je  $R_m$  specifična upornost enote površine membrane (v  $\Omega\text{cm}^2$ ) in  $O_m$  obseg membrane (v cm).  $R_m$  je odvisna od gostote ionskih kanalov, ki so odprti v mirovanju, in njihove prevodnosti.

Za  $r_i$  velja enačba 14:

$$r_i = \frac{R_i}{A_i} \quad (14),$$

pri čemer je  $R_i$  specifična upornost citoplazme (v  $\Omega\text{cm}$ ) in  $A_i$  površina prečnega prereza cilindra (v  $\text{cm}^2$ ).

Podobno velja za zunajcelični prostor. Ker je površina zunajceličnega prostora v primerjavi z znotrajceličnim zelo velika, je  $r_e$  praktično 0. Zato lahko v nadaljevanju  $r_e$  zanemarimo.  $\lambda$  tako izračunamo po enačbi 15:

$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_i}} \quad (15).$$

Iz enačb 13 in 14 vidimo, da je  $\lambda$  odvisna od  $O_m$  in  $A_i$ , torej od velikosti samega cilindra.

Za dendrite in aksone velja, da imajo relativno okrogel prečni prerez. Zato za  $O_m$  in  $A_i$  takšnega cilindra s polmerom  $a$  veljata enačbi 16 in 17:

$$O_m = 2\pi a \quad (16) \text{ in}$$

$$A_i = \pi a^2 \quad (17).$$

Iz enačb 11 in 14 sledi, da je  $r_m$  (enačba 18):

$$r_m = \frac{R_m}{2\pi a} \quad (18)$$

in  $r_i$  aksona (enačba 19):

$$r_i = \frac{R_i}{\pi a^2} \quad (19).$$

Če enačbi 18 in 19 vnesemo v enačbo 15, velja enačba 20:

$$\lambda = \sqrt{\frac{\frac{R_m}{2\pi a}}{\frac{R_i}{\pi a^2}}} = \sqrt{\frac{aR_m}{2R_i}} \quad (20).$$

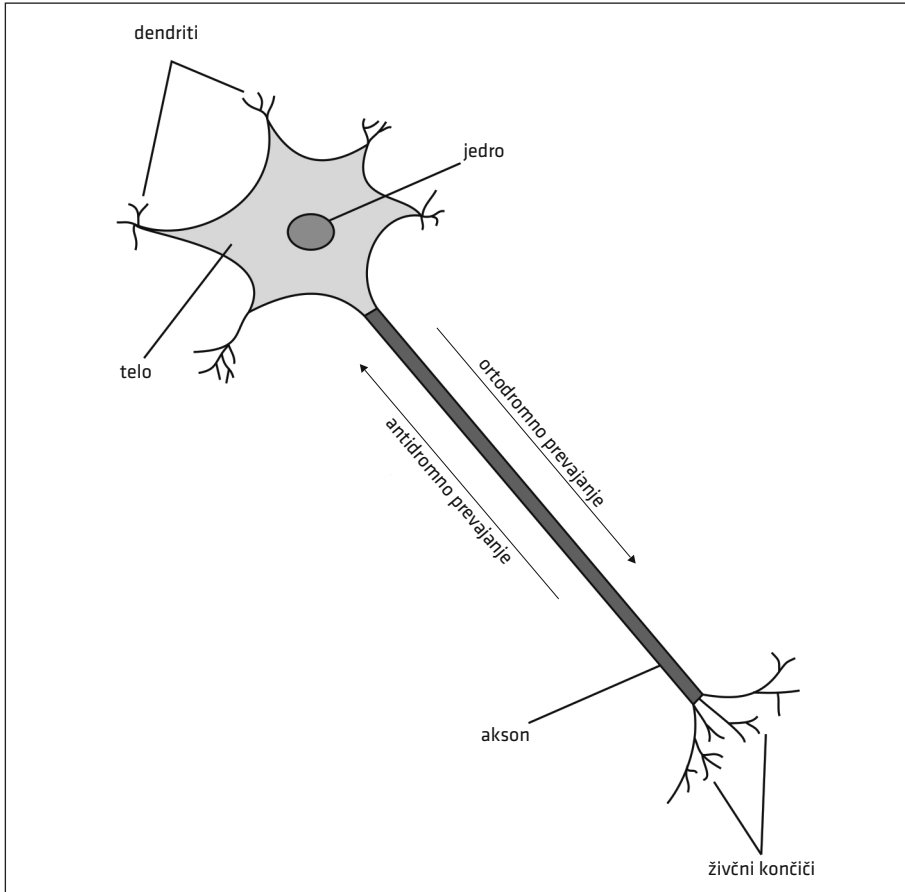
Iz enačbe 20 torej vidimo, da bo  $\lambda$  membrana večja takrat, ko bo večji polmer dendrita ali aksona in ko bo večja  $R_m$ . Slednja je večja takrat, kadar je na površini membrane manj ionskih kanalov, torej ko je membrana bolj izolirana. Večja  $\lambda$  pomeni širjenje spremembe napetosti dlje po membrani in s tem hitrejša prevajanje impulzov. Hitrost prevajanja impulzov je tako premo sorazmerna z  $\lambda$  in obratno sorazmerna s  $\tau$  (enačba 21):

$$v = \frac{\lambda}{\tau} \quad (21).$$

## NAČIN ŠIRJENJA SPREMEMBE NAPETOSTI PO MEMBRANI

Vsako živčno celico sestavljajo na aferentnem delu eden ali več dendritov, po katerih živčna celica sprejema informacijo, celično telo in na eferentnem delu dolg akson, po katerem živčna celica prenese impulz do mesta, kjer komunicira z efektorso celico (slika 5).

Dražljaj, ki sproži tok ionov preko membrane, povzroči spremembo v napetosti membrane. O tem, da je sprememba napetosti membrane na posinaptični membrani posledica delovanja živčnega prenašalca in da potencial, ki na dendritu nastane, imenujemo posinaptični potencial, si lahko bralec prebere v prispevku o AP avtorice Skelin Klemen M. (5). Na tem mestu zgolj spomnimo, da je posinaptični potencial po svoji



**Slika 5.** Zgradba nevrona. Nevron sestavljajo na aferentnem delu eden ali več krajših podaljškov – dendritov, preko katerih nevron sprejema informacijo, celično telo z jedrom in na eferentnem delu dolg akson, po katerem živčna celica prenese impulz do mesta, kjer komunicira z efektorsko celico.

naravi stopenjski potencial, ki se elektrotonično prenaša vzdolž dendrita v smeri telesa nevrona. Kot smo videli zgoraj, se pri elektrotoničnem širjenju spremembe potenciala sicer res širi tudi na sosednje dele membrane zaradi lokalnega toka ionov, vendar z oddaljevanjem od mesta nastanka dražljaja, sprememba v napetosti membrane pada in na določeni razdalji tudi izgine (6). Zato takšen način širjenja zagotavlja prenos informacije samo na kratke razdalje.

Ker so dendriti relativno kratki podaljški nevrona, je elektrotonični način širjenja spremembe potenciala zanje primeren. Če

je bil posinaptični dražljaj, ki je povzročil spremembo v potencialu dendrita, dovolj velik, se bo namreč na mestu, kjer iz telesa izhaja akson, membrana depolarizirala do vzdražnega praga in nastal bo AP. Ali bo stopenjski potencial sprožil nastanek AP ali ne, je odvisno od jakosti dražljaja, od polmera dendrita in od mesta nastanka stopenjskega potenciala. V kolikor je ta blizu izvora aksona, bo potreben manjši dražljaj za sprožitev AP, kot če stopenjski potencial nastane na zelo oddaljenem dendritu (3).

Spomnimo, da je AP hitra in prehodna depolarizacija celične membrane, ki nastane

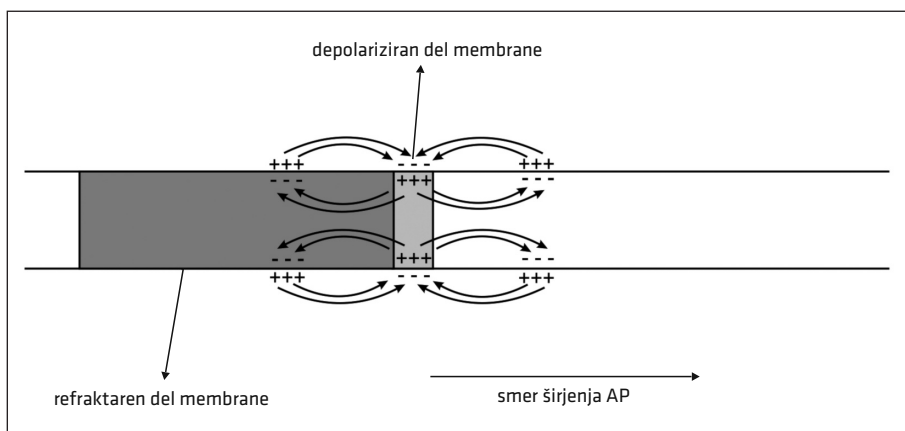


ne zaradi odpiranja napetostno odvisnih  $\text{Na}^+$ - in  $\text{K}^+$ -kanalov. AP se od podpraznega dražljaja in pasivnega stopenjskega potenciala razlikuje v tem, da gre pri AP za mnogo večji odgovor na dražljaj, pri čemer se polarizacija membrane obrne; notranjost celice postane bolj pozitivna od zunanosti. V primeru nadpraznih dražljajev ostane AP enak. Stopenjski potencial lahko tako bodisi sproži nastanek AP bodisi ne, zato govorimo o AP kot odgovoru tipa »vse ali nič« (5). Na dendritih je gostota napetostno odvisnih ionskih kanalov majhna, zato velja, da AP tam ne more nastati, čeprav v literaturi zasledimo tudi drugačne podatke (7, 8).

Ker so aksoni nevronov zelo dolgi (v dolžino lahko merijo tudi več kot meter), elektrotonično širjenje spremembe potenciala zanje ni primerno. Če bi se informacija po aksonu nevrone prenašala zgolj elektrotonično, kar se zgodi v primeru podpraznega dražljaja, lahko z veliko gotovostjo trdimo, da električni signal ne bi dosegel konca aksona, ampak bi prej zamrl. Da električni impulz prepotuje celotno dolžino dolgega aksona, je tako potrebno potovanje potenciala z nezmanjšano jakostjo. Prenos informacije vzdolž aksona zato poteka s širjenjem AP, saj se vzdolž celotne membrane aksona na-

hajajo napetostno odvisni ionski kanali, čeprav je gostota teh kanalov največja prav na mestu, kjer iz telesa izhaja akson (okrog 2000 kanalov/ $\mu\text{m}^2$ , kar je 1000-krat več kot na področju telesa in dendritov nevrone) (3). Takšna razporeditev napetostno odvisnih kanalov je varovalo, ki zagotavlja, da dovolj velik dražljaj zanesljivo povzroči nastanek AP. Tok ionov, ki steče preko membrane v času AP, je dovolj velik, da elektrotonično depolarizira tudi sosednji del membrane do vzdražnega praga, kjer nastane nov AP. Informacija, ki se prenaša vzdolž aksona, se na ta način samoojači. Ker sta amplituda in oblika AP stalni, je informacija, ki se prenaša vzdolž aksona, največkrat kodirana s frekvenco proženja AP. Ekscitacija nevrone tako poviša frekvenco proženja AP, inhibicija pa frekvenco zniža (3).

Če z elektrodo injiciramo tok v akson, kot nam prikazuje slika 4, bo v primeru depolarizacije do vzdražnega praga nastal AP, ki se bo prevajal na obe strani aksona. Fiziološko, v nevrone AP nastane na mestu, kjer iz nevrone izhaja akson in se širi vzdolž aksona. Lokalni tok ionov iz depolarizirane dela membrane se nato širi v obe smeri; v smer potovanja AP in nazaj proti mestu, od koder se je AP razširil (slika 6). Kakšen



**Slika 6.** Enosmerno širjenje akcijskega potenciala. Lokalni tok ionov se iz depolariziranega dela membrane širi na obe strani, vendar nov akcijski potencial nastane samo na delu membrane, kjer napetostno odvisni  $\text{Na}^+$ -kanali niso inaktivirani.

je torej razlog, da AP v naslednjem trenutku nastane samo na mestu pred delom membrane, ki je trenutno depolariziran? Odgovor na to se skriva v lastnostih napetostno odvisnih  $\text{Na}^+$ -kanalov. Spomnimo, da se  $\text{Na}^+$ -napetostno odvisni kanali aktivirajo ob depolarizaciji membrane do vzdražnega praga, nato se zelo hitro po aktivaciji tudi inaktivirajo ( $v \sim 0,7 \text{ ms}$ ) (9). Na delu plazemske membrane, kjer so napetostno odvisni  $\text{Na}^+$ -kanali inaktivirani, AP tako ne more ponovno nastati, zato tudi velik tok ionov, ki elektrotonično depolarizira ta del membrane, ne more sprožiti nastanka novega AP, lahko pa nov AP nastane na mestu, kjer še ni nastal, torej v smeri proti živčnim končičem. Fiziološka smer prevajanja dražljaja je torej v smeri od telesa nevrona do živčnih končičev, čemur pravimo ortodromno prevajanje. V primeru prevajanja AP v nasprotni smeri govorimo o antidromnem prevajanju (9).

## VPLIV MIELINA NA HITROST PREVAJANJA AKCIJSKEGA POTENCIALA

Hitrost prevajanja AP po živčnem vlaknu je torej odvisna od  $\lambda$  in  $\tau$  ter s tem od lastnosti aksona. Kot smo videli, je dolg, cilindričen akson po mnogih lastnostih podoben električnemu vodniku. Njegov premer lahko variira od manj kot  $1 \mu\text{m}$  do  $20 \mu\text{m}$  pri človeku, medtem ko ima gigantski akson lignja premer tudi do  $1 \text{ mm}$ . Informacija po aksonih potuje s hitrostjo vse od  $0,6$  do več kot  $100 \text{ m/s}$ . Hitrost prevajanja lahko povečamo s povečanjem polmera aksona, vendar je treba, če želimo podvojiti hitrost prevajanja, polmer povečati za štirikrat (enačba 20). Iz tega lahko sklepamo, da mora za pospešitev prenosa obstajati še druga, boljša pot. Hitrost prenosa lahko povečamo tudi tako, da povečamo  $R_m$  in zmanjšamo  $C_m$ . To lahko storimo z izolacijo plazemske membrane, kar je značilno za mielinizirana živčna vlakna. Jedro aksona lahko torej obdaja zgolj membrana (v primeru nemielinizirane aksona) ali pa mnogo debelejša ovoj-

nica, sestavljena pretežno iz lipidov (z visoko vsebnostjo holesterola in fosfolipidov), imenovana mielinska ovojnica. Mielin sestavlja plazmalema Schwannovih celic v perifernem živčnem sistemu (PŽS) in oligodendrocitov v osrednjem živčnem sistemu (OŽS), ki ovija živčno vlakno in ga s tem izolira. Mielinsko ovojnico lahko sestavlja tudi 300 plasti membran celic glie (10). Težava, ki bi se pri mielinizaciji lahko pojavila, je, da bi pri ovijanju aksona z mielinom zakrili napetostno odvisne ionske kanale in AP zato ne bi mogel nastati. Da do tega ne pride, je na vsakih nekaj mm v mielinski obojnici nekaj  $\mu\text{m}$  široka vrzel, ki jo imenujemo Ranvierov zažetek in kjer se nahaja glavna napetostno odvisnih ionskih kanalov, ki omogočajo nastanek AP. V telesu mielinizirana živčna vlakna najdemo na mestih, kjer je potreba po hitrem prenosu velika (npr. pri prenosu motoričnih informacij), medtem ko nemielinizirana živčna vlakna po telesu prenašajo informacije, kjer hitrost prenosa ni izrednega pomena (npr. informacije o temperaturi).

Nemielinizirana živčna vlakna predstavljajo približno dve tretjini vseh živčnih vlaken v človeškem telesu. Njihov polmer znaša od  $0,05$  do  $1,3 \mu\text{m}$ . Nemieliniziranih živčnih vlaken z večjim polmerom v telesu ni, saj višjo hitrost prenosa dosežemo z mielinizacijo. Hitrost prevajanja po nemieliniziranih živčnih vlaknih je odvisna od polmera živčnega vlakna in po empiričnih podatkih znaša  $\approx 1800 \sqrt{a}$ , pri čemer je  $a$  polmer aksona (6).

Mielinizirana živčna vlakna so relativno velikega premera, njihov zunanji premer znaša od  $0,5$  do  $10 \mu\text{m}$ . Kot rečeno, so mielinizirana živčna vlakna obdana z mnogimi plastmi mielina, pri čemer velja, da je zunanji polmer takšnega živčnega vlakna (enačba 22):

$$a + b \approx 1,67a \quad (22),$$

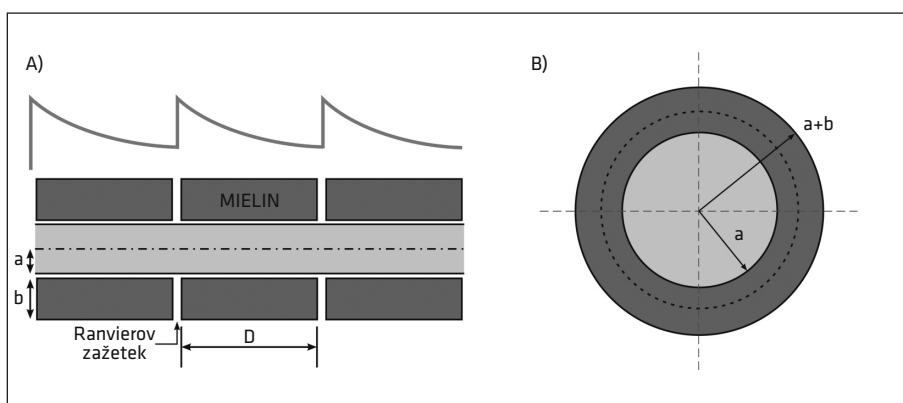
pri čemer je  $a$  notranji polmer aksona in  $b$  debelina mielinske obojnice, kot prikazuje slika 7.

Ranvierovi zažetki se nahajajo na vsakih nekaj mm. Razmik med njimi ( $D$ ) je pomemben in je sorazmeren zunanemu premeru ter po podatkih iz literature znaša (enačba 23):

$$D = 200 (a + b) \approx 330a \quad (23).$$

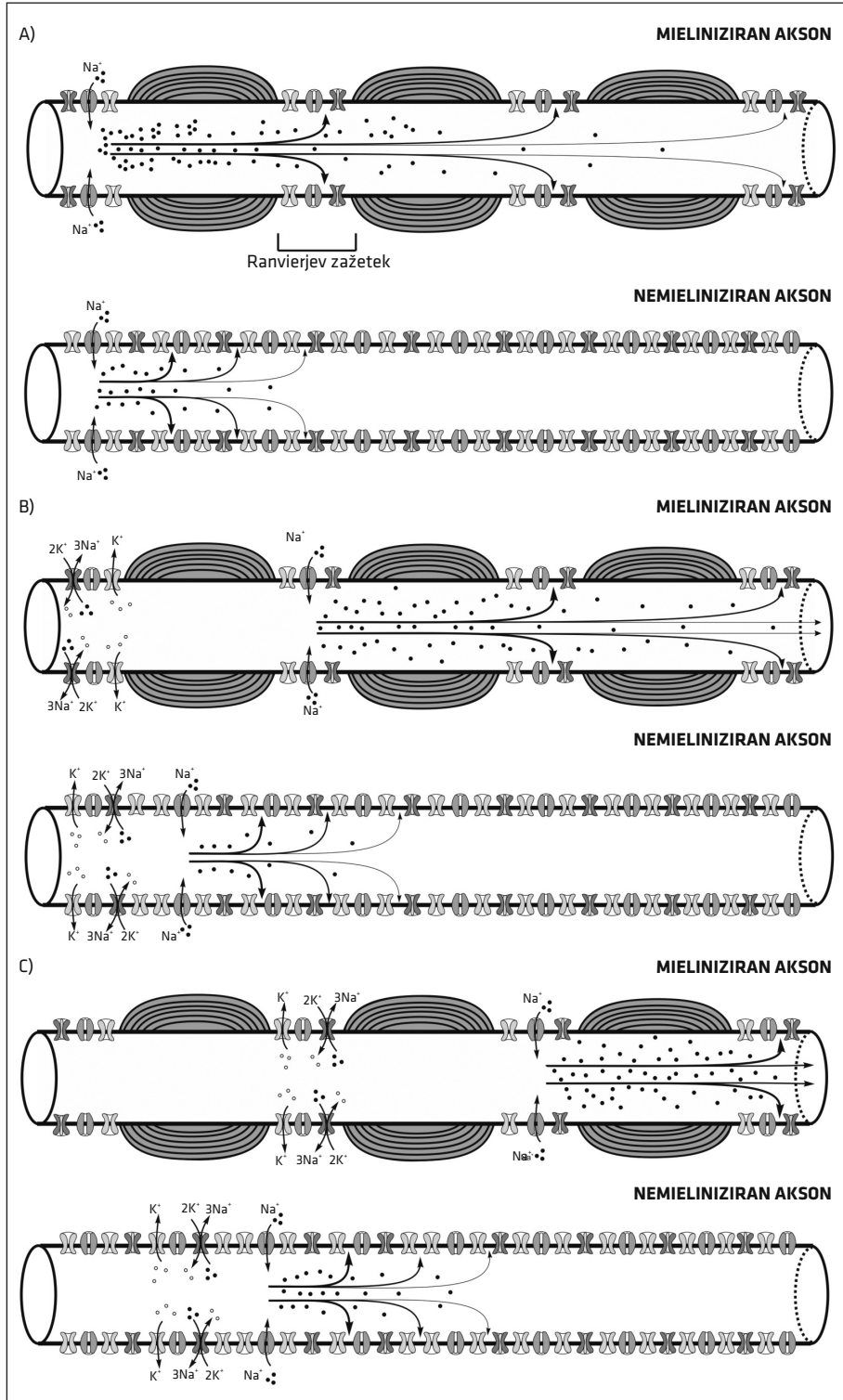
Zaradi mielinskega ovoja na membrani se aktivirajo le posamezni odseki na aksonu. Do depolarizacije plazemske membrane in nastanka AP pride tako le na Ranvierovih zažetkih, kjer se nahaja glavna  $\text{Na}^+$ -napetostno odvisnih kanalov. V mielinizirani regiji aksona je prevajanje živčnega impulza elektrotonično, saj na tem delu napetostno odvisnih ionskih kanalov ni. Ko tok

ionov vzdolž membrane doseže naslednji Ranvierov zažetek, se membrana depolarizira do vzdražnega praga in z nekaj zamika se tvori nov AP. Impulz preskakuje s segmenta na segment, kar imenujemo skokovito oz. saltatorno prevajanje. Skok oz. razdalja, na kateri potencial zamre, je daljši od razdalje med dvema Ranvierovima zažetkoma (doseže lahko celo tri Ranvierove zažetke), kar omogoča večjo zanesljivost prenosa informacije. Saltatorno prevajanje signala po aksonu je tako hitrejše od kontinuiranega in porabi manj energije, saj vzdolž aksona nastane manj AP (slika 8). S tem je tok ionov preko membrane manjši, kar olajša delo  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -črpalkam, za katere je bilo izračunano, da prečrpajo 200  $\text{Na}^+$ -ionov



**Slika 7.** Idealizirana struktura mieliniziranega živčnega vlakna. Vzdolžni prezek vlakna (A). Razdalja med Ranvierovimi zažetki znaša 100-kratnik premera aksona. Krivulja zgoraj nam prikazuje nastanek akcijskega potenciala na Ranvierovem zažetku. Sprememba v potencialu se nato elektrotonično širi do naslednjega Ranvierovega zažetka, kjer ponovno nastane akcijski potencial. Prečni prezek mieliniziranega živčnega vlakna (B).  $a$  – polmer živčnega vlakna,  $b$  – polmer mielinske ovojnice,  $D$  – razdalja med Ranvierovimi zažetki.

**Slika 8.** Širjenje akcijskega potenciala vzdolž mieliniziranega in nemieliniziranega živčnega vlakna. Nadprazni dražljaj sproži lokalno odprtje napetostno odvisnih  $\text{Na}^+$ -kanalov in nastanek akcijskega potenciala, ki se elektrotonično (pasivno) širi vzdolž aksona (A). V mieliniziranem aksonu novi akcijski potencial nastane na področju naslednjega Ranvierovega zažetka (daljša dolžinska konstanta), medtem ko na nemieliniziranem aksonu lokalni tok ionov  $\text{Na}^+$  sproži nastanek akcijskega potenciala na sosednjem mestu (krajša dolžinska konstanta) (B). V mieliniziranem aksonu se sprememba napetosti membrane skokovito širi od enega do drugega Ranvierovega zažetka, kar zviša hitrost prenosa informacij po aksonu v primerjavi z nemieliniziranim živčnim vlaknom (C). Zaradi manjšega toka ionov je poraba energije v mieliniziranem živčnem vlaknu manjša, saj je potreba po delovanju  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz manjša in se te nahajajo samo na področju Ranvierovih zažetkov.



na sekundo in se pri mieliniziranih živčnih vlaknih prav tako nahajajo v glavnem samo na Ranvierovih zažetkih (9).

Saltatorno prevajanje impulzov v mieliniziranem živčnem vlaknu lahko doseže hitrosti tudi do 120 m/s. Med polmerom mieliniziranega vlakna in hitrostjo velja okvirna povezava (enačba 24) (6):

$$v \approx 12 \times 10^6 (a + b) \approx 20 \times 10^6 a \quad (24).$$

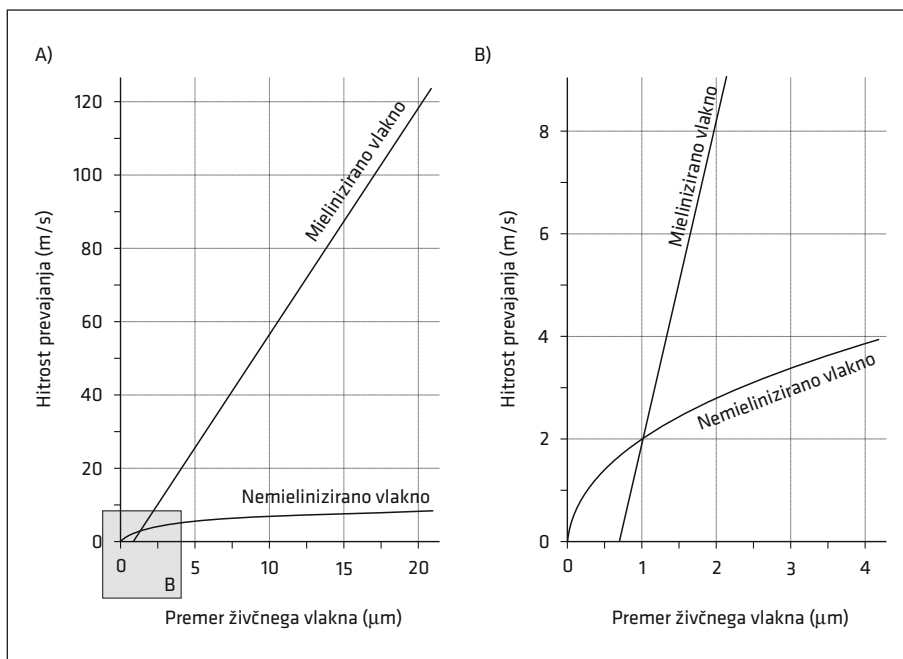
Mielinizirana živčna vlakna majhnega premera so tako lahko počasnejša kot nemielinizirana vlakna enakega premera, saj je premer samega aksona v primeru mieliniziranega živčnega vlakna zaradi prisotne mielinske ovojnice dejansko mnogo manjši kot premer aksona v nemieliniziranem živčnem vlaknu, ki ga obdaja zgolj plazemska membrana (11). Meritve so pokazale (slika 9), da v PŽS živčna vlakna s premerom

več kot 1  $\mu\text{m}$  hitreje prenašajo informacijo, če so mielinizirana, medtem ko živčna vlakna manjšega premera hitreje prenašajo informacijo, če niso mielinizirana (12).

V OŽS je kritični premer živčnega vlakna, pri katerem se pojavi mielinska ovojnica, manjši, in sicer znaša 0,2  $\mu\text{m}$  (13). Kaj je razlog za to razliko, še ni popolnoma raziskano, najverjetneje pa k njej prispevajo drugačne lastnosti aksoplazme nevronov PŽS in OŽS.

## MOTNJE V HITROSTI PREVAVANJA

Fiziološka vloga mielina pri širjenju AP je še posebej očitna pri ljudeh z demielinizacijskimi boleznimi, kot je npr. multipla skleroza (MS). Vzrok za nastanek MS ni popolnoma jassen. Pomembno vlogo pri razvoju bolezni ima brez dvoma imunski sistem, vendar vzrok za njegovo aktivacijo ni popolnoma raziskan. Najverjetnejša hipo-



**Slika 9.** Hitrost prevajanja po živčnem vlaknu v perifernem živčnem sistemu v odvisnosti od premera živčnega vlakna. Hitrost prevajanja po živčnem vlaknu v odvisnosti od premera živčnega vlakna in mielinizacije vlakna (A). Hitrost prevajanja v nemieliniziranih vlaknih v perifernem živčnem sistemu je višja kot pri mieliniziranih vlaknih samo v primeru zelo majhnega premera vlakna (B).

teza je, da gre pri MS za avtoimunsko bolezen, pri kateri progresivno propada mielinska ovojnica, ki obdaja aksone v OŽS (14). Iz propadlih mielinskih ovojnic nastanejo različno velika in razpršena vnetna žarišča, ki povzročijo še dodatne nepopravljive okvare živčnih vlaken. Bolezen se najpogosteje razvija postopoma in se pojavi med 20. in 40. letom starosti ter se kaže s pojavom nevroloških motenj, ki trajajo nekaj dni ali tednov, nato se za nekaj časa umirijo. Redko je vnetni proces pri MS zelo akuten (Marburgova oblika) in že od začetka zelo napredujoč (15). Z razvojem bolezni pride pogosto do okvare vida na enem očesu zaradi poškodbe optičnega živca, mišične šibkosti ali paralize zaradi poškodb kortikospinalnega trakta ali do vrtoglavice zaradi poškodbe vestibularne poti. Postopna demielinizacija je odgovorna za postopen pojav nevroloških simptomov. V začetku se lahko propadle mielinske ovojnice nadomestijo z novimi, vendar so te tanjše, zmanjša se tudi razdalja med posameznimi Ranvierjevi zažetki, z razvojem bolezni do remielinizacije ne pride več (16). Z izgubo mielina se zmanjša  $R_m$  (zmanjšanja  $\lambda$ ) in poveča njena  $C_m$  (zvečanja  $\tau$ ), zaradi česar se zmanjša hitrost širjenja AP. Obstaja nevarnost, da v primeru obsežnejše demielinizacije AP ne doseže več naslednjega Ranvierovega zažetka. Tak nevron ni več sposoben prenašanja impulza vzdolž aksona.

AP lahko posnamemo z elektrodami, tako da le-te postavimo na površino telesa. Ta tehnika se v kliniki uporablja za ugotavljanje disfunkcije določene skupine nevronov. Za oceno delovanja PŽS uporabljamo metodo meritev prevajanja v perifernih živcih (elektronevrografija). Za oceno delovanja OŽS s pomočjo senzoričnih izvabljenih odzivov (evociranih potencialov) odkrivamo spremembe v vidnem sistemu (vidni evocirani potencial, VEP), slušnem sistemu (akustični potenciali možganskega debla,

APMD), somatosenzoričnem sistemu (somatosenzorični evocirani potencial, SEP) in motoričnem sistemu (motorični evocirani potencial, MEP). Periferne živce in mnogo živčnih povezav OŽS sestavljajo skupine aksonov z različnimi premeri, nekateri so mielinizirani, drugi ne. Posledično AP potuje v različnih aksonih z različnimi hitrostmi. Rezultat snemanja aktivnosti živcev z zunanji elektrodami nam tako ne da sinhronega odziva, temveč vrsto odzivov, ki se razlikujejo v času (kar odraža različne hitrosti prevajanja v različnih aksonih) in velikosti (kar odraža različno število aksonov v različnih hitrostnih skupinah). Takšen odziv imenujemo sestavljen AP, katerega trajanje in oblika sta odvisni od števila in lastnosti živčnih vlaken, ki živec sestavljajo. Hitrost prevajanja po živcu navadno odraža hitrost prevajanja po najhitrejših vlaknih. Pri MS so evocirani potenciali zaradi upočasnjenega prevajanja impulzov zapozneli ali v primeru popolne prekinitve prenosa odziva celo ne zabeležimo (17). Zaradi razvoja drugih metod, predvsem slikovnih, je uporabnost meritev hitrosti prevajanja AP po živčnih vlaknih v diagnostiki MS vse manjša.

Mnogo večji pomen ima dandanes meritev hitrosti prevajanja AP na področju periferne nevrologije, zlasti v rutinski diagnostiki okvar perifernega živčevja, najpogosteje utesnitvenih nevropatij in polinevropatij. Periferno nevropatijo prepoznamo po simptomih, kot so izpad senzibilitete, zmanjšana občutljivost na bolečino, pojav nevropatske bolečine in mišična oslabelost. Utesnitvene nevropatije se razvijejo zaradi kroničnega stisnjenja in trenja živca pri premikih skozi pretesne anatomske ožine, medtem ko je najpogostejši vzrok kronične polinevropatije sladkorna bolezen. Pri diabetični nevropatiji imajo bolniki občutek mravljinčenja in pekoče bolečine, izgubijo občutek za dotik, bolečino, temperaturo in vibracije (18).

## VPLIV LOKALNIH ANESTETIKOV NA PREVAMANJE IMPULZOV

Na prevajanje potencialov v živčnih vlaknih vplivajo tudi lokalni anestetiki. Lokalni anestetiki so učinkovine, ki zavirajo nastanek in prevajanje AP v živčnih vlaknih in povzročijo lokalno in povratno neobčutljivost tkiva na zunanje dražljaje (19). Kljub temu da se v klinični praksi uporabljajo že več kot stoletje, je molekularni mehanizem njihovega delovanja znan šele zadnjih nekaj desetletij (20).

V 80. letih 19. stoletja sta Carl Koller in Sigmund Freud prvič uporabila kokain, ki je bil izoliran iz listov koke (*Erythroxylon coca*), kot lokalni anestetik (21). Kokain namreč med drugim nespecifično blokira napetostno odvisne Na<sup>+</sup>-kanale, zato v majhnih dozah deluje kot anestetik, v višjih dozah pa lahko zaradi blokade teh kanalov povzroči srčni zastoj (22). Kljub svojim slabostim (visoka toksičnost, kratek čas anestezije, zasvojenost itd.) je bila uporaba kokaina za lokalno anestezijo zelo razširjena. V poznih 20. letih prejšnjega stoletja sta Gasser in Erlanger s svojimi poskusi ugotovila, da je glavni dejavnik, ki vpliva na to, ali lokalni anestetik blokira prenos impulzov v živčnih vlaknih ali ne, polmer živčnega vlakna (23). Kasneje se je izkazalo, da so tarče delovanja lokalnih anestetikov različne populacije ionskih kanalov in da se v nekaterih živčnih vlaknih majhne-

ga premera (vlakna tipa C, odgovorna tudi za prenos tope bolečine) nahajajo napetostno odvisni Na<sup>+</sup>-kanali, odporni na lokalne anestetike oz. je za njihovo blokado potrebna tri- do petkrat višja koncentracija lokalnega anestetika (odvisno od vrste lokalnega anestetika) kot za blokado na lokalne anestetike občutljivih kanalov (20). Lokalni anestetiki pa ne blokirajo zgolj napetostno odvisnih Na<sup>+</sup>-kanalov, temveč tudi napetostno odvisne K<sup>+</sup>- in Ca<sup>2+</sup>-kanale. Zlasti slednji so po svoji strukturi precej podobni Na<sup>+</sup>-kanalom, zato omenjeno dejstvo ne preseneča. Prav blokada tako napetostno odvisnih K<sup>+</sup>- kot Ca<sup>2+</sup>-kanalov je vzrok za nekatere neželene učinke pri uporabi klinično relevantnih koncentracij lokalnih anestetikov.

## ZAKLJUČEK

Nastanek in prenos stopenjskega in akcijskega potenciala je ključen za prenos informacij po živčnih vlaknih v OŽS in PŽS. Na hitrost prenosa informacije vplivata tako premer živčnega vlakna kot prisotnost mielinske ovojnice. Pomembnost slednje postane očitna šele pri ljudeh z demielinizacijskimi boleznimi. Na drugi strani pa lahko na prevajanje impulzov vplivamo tudi farmakološko, kar medicina s pridom izkorišča, zato je poznavanje lastnosti živčnih vlaken in prevajanja informacije izjemnega pomena.



**LITERATURA**

1. Breuer Hans BR. Atlas klasične in moderne fizike. Ljubljana: Državna založba Slovenije; 1993.
2. Hodgkin AL, Huxley AF. Propagation of electrical signals along giant nerve fibres. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1952; 140 (899): 177–83.
3. Boron WF, Boulpaep EL. *Medical physiology, 2e updated edition.* 2nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2012. p. 147–211.
4. Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol.* 1952; 117 (4): 500–44.
5. Skelin Klemen M. Akcijski potencial. *Med Razgl.* 2014; 53 (2): 203–17.
6. Hobbie RK, Roth BJ. *Intermediate physics for medicine and biology.* 4th ed. New York: Springer; 2007. p. 135–66.
7. Stuart G, Spruston N, Sakmann B, et al. Action potential initiation and backpropagation in neurons of the mammalian CNS. *Trends Neurosci.* 1997; 20 (3): 125–31.
8. Linas R, Nicholson C. Electrophysiological properties of dendrites and somata in alligator purkinje cells. *J Neurophysiol.* 1971; 34 (4): 532–51.
9. Smith CUM. *Elements of molecular neurobiology.* 3rd ed. Chichester: John Wiley & Sons; 2002. p. 259–68.
10. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology.* 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. p. 57–71.
11. Rushton WAH. A theory of the effects of fibre size in medullated nerve. *J Physiol.* 1951; 115 (1): 101–22.
12. Duncan D. A relation between axone diameter and myelination determined by measurement of myelinated spinal root fibers. *J. Comp. Neurol.* 1934; 60 (3): 437–71.
13. Waxman SG, Bennett MVL. Relative conduction velocities of small myelinated and non-myelinated fibres in the central nervous system. *Nat New Biol.* 1972; 238 (85): 217–9.
14. Nicholas R, Rashid W. Multiple sclerosis. *Am Fam Physician.* 2013; 87 (10): 712–4.
15. Simon JH, Kleinschmidt-DeMasters BK. Variants of multiple sclerosis. *Neuroimaging Clin N Am.* 2008; 18 (4): 703–16.
16. Denišlić M. Multipla skleroza. *Med Razgl.* 1998; 37 (1): 33–51.
17. Breclj J. Vidni evocirani potenciali in elektrofiziološko ocenjevanje vidne poti. *Med Razgl.* 1994; 33 (3): 339–59.
18. Misra UK, Kalita J, Nair PP. Diagnostic approach to peripheral neuropathy. *Ann Indian Acad Neurol.* 2008; 11 (2): 89–97.
19. Humar M, Korbar JŠ, Obreza A, eds. *Farmacevtski terminološki slovar [internet].* Ljubljana: Založba ZRC; 2011 [citirano 2018 Apr 19]. Dosegljivo na: <https://isjfr.zrc-sazu.si/sl/terminologisce/slovarji/farmacevtski>
20. Scholz A. Mechanisms of (local) anaesthetics on voltage-gated sodium and other ion channels. *Br J Anaesth.* 2002; 89 (1): 52–61.
21. dos Reis A Jr. Sigmund Freud (1856-1939) and Karl Köller (1857-1944) and the discovery of local anesthesia. *Rev Bras Anesthesiol.* 2009; 59 (2): 244–57.
22. O'Leary ME, Hancox JC. Role of voltage-gated sodium, potassium and calcium channels in the development of cocaine-associated cardiac arrhythmias. *Br J Clin Pharmacol.* 2010; 69 (5): 427–42.
23. Gasser HS, Erlanger J. The rôle of fiber size in the establishment of a nerve block by pressure or cocaine. *Am J Physiol.* 1929; 88 (4): 581–91.



Helena Biasizzo<sup>1</sup>, Petra Grbec<sup>2</sup>

## Lepra (gobavost)

### *Leprosy*

#### IZVLEČEK

---

KLJUČNE BESEDE: lepra, klasifikacija, klinična slika, zdravljenje

Lepra (gobavost) je kronična infekcijska bolezen, ki prizadene predvsem kožo in periferno živčevje. Povzročata jo bakteriji *Mycobacterium leprae* in *Mycobacterium lepromatosis*. Kljub velikim naporom Svetovne zdravstvene organizacije in številnih nevladnih organizacij lepra v nekaterih državah tropskega in subtropskega pasu še vedno predstavlja veliko zdravstveno težavo. Ocenjujejo, da je na svetu približno dva milijona ljudi, ki so zaradi lepre trajno invalidni. V prispevku je predstavljena patofiziologija, klinična slika in klasifikacija bolezni. Opisan je tudi sodoben način zdravljenja s kombinacijo več različnih antibiotikov.

#### ABSTRACT

---

KEY WORDS: leprosy, classification, clinical picture, treatment

Leprosy is a chronic infectious disease, which primarily affects the skin and peripheral nervous system. It is caused by two pathogens: *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium lepromatosis*. Despite the efforts of the World Health Organization and numerous non-governmental organisations, leprosy still presents a major public health problem in some tropical and subtropical countries. It is estimated that there are around two million people worldwide permanently disabled because of leprosy. In this article, we present the pathophysiology, clinical picture and classification of the disease. Contemporary treatment with different antibiotics is also described.

---

<sup>1</sup> Helena Biasizzo, dr. med., Oddelek za infektologijo, Splošna bolnišnica Novo mesto, Šmihelska cesta 1, 8000 Novo mesto; helena.biasizzo@gmail.com

<sup>2</sup> Petra Grbec, dr. med., Klinični oddelek za anesteziologijo in intenzivno terapijo operativnih strok, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

## UVOD

Lepra (gobavost) je kronična infekcijska granulomatozna večsistemska bolezen, ki jo povzročata bakteriji *Mycobacterium leprae* in nedavno odkrita *Mycobacterium lepromatosis*. Klinično se kaže predvsem s prizadetostjo kože, perifernega živčnega sistema, v sklopu bolezni pa so lahko prizadete tudi ledvice, oči, moda in drugi organi (1–4).

Včasih so ji rekli tudi »smrt pred smrtjo«, saj je bila lepra v preteklosti in je še danes ena izmed bolezni, ki bolnike najbolj telesno pohabi in stigmatizira (1). Zaradi stigmatizacije bolnikov z omenjeno boleznijo Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) priporoča uporabo imena hansenioza (angl. *hanseniosis*) oz. *Morbus Hansen*, po odkritelju bolezni, Norvežanu Gerhardu Armauerju Hansnu. Vendar se kljub priporočilom v medicinski literaturi še vedno večinoma uporablja ime lepra, zato bomo, da se izognemo nesporazumom, to besedo uporabljali tudi v tem prispevku (4).

Prvi zapisi o lepri se pojavijo že v starem veku v Indiji, Egiptu, Mezopotamiji in na Kitajskem. Bolezen se je iz Azije širila po celotni Evropi in dosegla epidemične razsežnosti v času križarskih vojn (11.–13. stoletje). To je bila bolezen fevdalne dobe v pravem pomenu besede (1). V 15. stoletju je epidemija nekoliko pojenjala, še do 19. stoletja pa so se po posameznih predelih Evrope ohranila endemična žarišča, npr. v Skandinaviji. V Novi svet se je širila iz Zahodne Afrike (trgovina s sužnji) in iz Evrope (raziskovalci, trgovci, vojaki) (5). Bolnike

so nastanili v posebnih ustanovah, imenovanih leprozoriji, ki so služili predvsem za osamitev bolnikov od okolice in niso imeli nobene vloge pri zdravljenju obolelih. Leprozorije so včasih imenovali tudi lazareti, po svetem Lazarju, ki je bil zaščitnik bolnikov z lepro. Obolelim so bile odvzete vse pravice, njihovi zakoni so bili izničeni, ponekod pa so bili proglašeni celo za mrtve. V 40. letih 20. stoletja je bilo na voljo prvo učinkovito zdravljenje z antibiotikom dapsonom, vendar se je z nesmotrno uporabo proti njemu hitro razvila odpornost. Danes imamo za lepro na voljo učinkovito zdravljenje s kombinacijo več različnih antibiotikov (1, 4).

Kljub učinkovitemu zdravljenju pa lepra v nekaterih državah še vedno ostaja velika zdravstvena težava. Ocenjujejo, da je na svetu približno dva milijona ljudi s trajnimi posledicami zaradi lepree. Te so večinoma deformacije udov, iznakažen obraz in slepota (6). Zaradi naraščajočega števila mednarodnih potnikov v endemična področja pa je prav, da to bolezen poznamo tudi pri nas.

## EPIDEMIOLOGIJA

Lepra je endemična predvsem v subtropskih in tropskih deželah in je povezana z revščino in slabimi bivanjskimi razmerami. Leta 2017 so zabeležili 210.671 novoodkritih primerov lepree, od tega več kot polovico v Indiji, sledita Brazilija in Indonezija (7). Število novoodkritih primerov po posameznih državah je prikazano v tabeli 1.

**Tabela 1.** Države z največjim številom novoodkritih bolnikov z lepro leta 2017 (7).

Država	Število novoodkritih primerov
Indija	126.164
Brazilija	26.875
Indonezija	15.910
Bangladeš	3.754
Demokratska republika Kongo	3.649

Čeprav se lepra pojavlja predvsem v državah, kjer je endemična, pa obstajajo posamezni opisi bolnikov (npr. v Franciji), ki so zboleli za to boleznijo in niso nikoli živeli v endemičnih področjih ali tja potovali (8).

## POVZROČITELJ

Še do nedavnega je veljalo, da lepro povzroča le obvezna znotrajcelična bakterija *M. leprae*. Leta 2008 pa je bil odkrit do tedaj še neznan povzročitelj, *M. lepromatosis* (2). *M. lepromatosis* povzroča najhujšo obliko lepree, tj. difuzna nenodularna lepromatozna lepra, ki je opisana v nadaljevanju prispevka. Mikroskopsko sta bacila identična, razlikovanje je možno le z molekularnimi metodami. Obe mikobakteriji sta po Gramu pozitivna bacila, velikosti  $0,3 \mu\text{m} \times 8 \mu\text{m}$ , po velikosti in zgradbi spominjata na *Mycobacterium tuberculosis* (3, 4). Med evolucijo sta bakteriji izgubili veliko genov in sta sposobni opravljati le nekaj osnovnih biokemičnih poti (9). Ne rasteta na klasičnih mikrobioloških gojiščih, možno pa ju je gojiti v podplatih laboratorijskih miši (10). Bakteriji se razmnožujeta zelo počasi (germinacijski čas je 13 dni), zato je tudi inkubacijska doba bolezni dolga. Kažeta tropizem za makrofage in Schwannove celice. Glede na to, da bacila najuspešneje rasteta pri temperaturi  $33^\circ\text{C}$ , so predilekcijska mesta pri človeku hladnejši predeli telesa (uhlji, nosna sluznica, udi, moda) (3, 4).

Povzročitelja lepree je leta 1873 v Bergnu na Norveškem odkril Gerhard Armauer Hansen. To je bil prvi primer dokaza patogena kot vzroka za infekcijsko obolenje v zgodovini medicine (1, 4).

## NAČIN OKUŽBE

Mehanizem prenosa do danes še ni povsem jasen. Glavna dejavnika tveganja za okužbo sta življenje v prenaseljenih skupnostih in dolgotrajen tesen stik z obolelim. Preko nosne sluznice bolnikov z lepromatозno obliko bolezni se dnevno z nosnimi izločki iz-

ločajo velike količine bacilov, ki lahko v okolju preživijo tudi do teden dni. Glede na to je najverjetnejša pot prenosa preko nosne sluznice. Poleg tega se lahko bacili izločajo tudi preko kožnih razjed bolnikov, pri lepromatozni obliki bolezni pa se manjše količine bacilov izločajo tudi z luščenjem kože (3, 4). Nedavno so bili opisani primeri lepree pri pasovcih v Louisiani in Teksasu in po sedanjih dognanjih bi lahko lepra v teh predelih predstavljala zoonozo (11). Bacili lepree se pri doječih materah nahajajo v mlečnih žlezah in mleku, zato lahko pride do prenosa z matere na otroka med dojenjem. Prav tako naj bi lahko prišlo do znotrajmaterničnega prenosa z matere na plod. Opisani so tudi primeri prenosa preko tetoviranja (12).

## INKUBACIJSKA DOBA

Inkubacijska doba je zelo različna. Najkrajša zabeležena je nekaj tednov, najdaljša pa 40 let. V povprečju inkubacijska doba znaša 3–10 let (3, 4).

## PATOFIZIOLOGIJA

Raznolike klinične slike lepree so posledica različnega imunskega odziva organizma na bacile. V imunskem odzivu proti bacilom lepree osrednjo vlogo igra celično posredovana imunost (CPI). Za boljše razumevanje bolezni si predstavljamo tuberkuloidno lepro (dober imunski odziv na bacile lepree) in lepromatозno lepro (slab oz. ničn imunski odziv na bacile lepree) kot dve polarnosti imunskega odziva organizma na bacile lepree. Med tema dvema skrajnostma so mejne (angl. *borderline*) oblike (3, 4, 13).

Pri tuberkuloidni lepri je CPI izrazita, zato so bolezenske spremembe omejene oz. lokalizirane. Leprominski test je pri tej obliki lepree močno pozitiven. Za lepromatозno obliko lepree je značilna zelo šibka oz. nična CPI na bacile lepree. Zaradi tega se lahko ti nenadzorovano razmnožujejo v različnih tkivih. Leprominski test je negativen. Imunski odziv pri mejnih oblikah lepree se nahaja med opisanimi skrajnima poloma in je

prav zaradi tega značilno nestabilen ter se lahko med boleznijo zaradi različnih okoliščin spreminja. To se izrazi v prehajanju ene klinične oblike v drugo oz. vpliva na nastanek lepra reakcij. Uporaben in do nedavnega edini diagnostični test je bil t. i. leprominski test, ki hkrati omogoča oceno bolnikovega imunološkega stanja (3, 4).

## Leprominski test

S testom določimo sposobnost organizma za tvorbo imunskega odziva po intradermalni injekciji suspenzije *M. leprae*. Suspenzijo so včasih pridobivali iz nodularnih kožnih sprememb bolnikov z lepro, danes pa jo pridobivajo iz tkiv obolelih pasavcev. Test izvedemo tako, da bolniku intradermalno injiciramo 0,1 ml omenjene suspenzije ter opazujemo kožno reakcijo na mestu vboda. Reakcija, ki se pojavi v prvih 48 urah kot eritem, predstavlja alergični odziv organizma na *M. leprae*. Imenujemo jo tudi Fernandezova reakcija in je prisotna pri vseh kliničnih oblikah lepre. Pozna reakcija oz. reakcija Mitsuda se pojavi približno po štirih tednih in je močno pozitivna pri tuberkuloidni obliki lepre, običajno negativna ali blago pozitivna pri mejnih oblikah ter negativna pri lepromatozni obliki lepre. Reakcija Mitsuda kaže na dober imunski odziv organizma na bacile lepre in s tem ugoden potek bolezni (4).

## HISTOLOGIJA

Za tuberkuloidno lepro so v prizadetem tkivu značilni dobro oblikovani granulomi, sestavljeni iz epiteloidnih celic (histiocitov), ki jih obdaja plašč limfocitov T, ki na svoji površini izražajo označevalec pripadnosti 4 (angl. *cluster of differentiation 4*, CD4+). Bacilov lepre je v teh lezijah malo ali pa so popolnoma odsotni (4, 13).

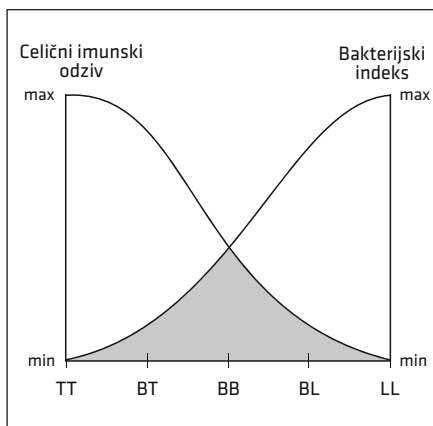
Pri razviti lepromatozni lepri so granulomi slabo oblikovani. Tkivo vsebuje veliko število bacilov lepre, ki se nahajajo v Virchowovih celicah (histiocitih). Limfocitov CD4+ je malo (4).

## Bakterijski indeks

Bakterijski indeks (BI) je pomemben za določitev bakterijskega bremena, razvrstitve bolezni v ustrezen razred klasifikacije in za sledenje uspešnosti zdravljenja. BI določimo tako, da iz skarifikata kože, ki jo odvmemo iz roba aktivne kožne spremembe in obeh ušesnih mečic, pod mikroskopom določimo povprečno število bacilov v vidnem polju. Skarifikat obarvamo po Ziehl-Neelsnu. Rezultat izrazimo v logaritmski skali v vrednostih 0 do 6+ (0 – v 100 pregledanih mikroskopskih poljih ne najdemo nobenega bacila; 6+ – v enem vidnem polju je prisotnih več kot 1.000 bacilov). Povečava je 1.000-kratna (4).

## KLASIFIKACIJA

Najpogosteje uporabljamo Ridley-Joplingovo klasifikacijo, ki upošteva klinične, imunske in histološke posebnosti različnih oblik lepre. Po tej klasifikaciji razdelimo lepro na pet kliničnih oblik (13, 14). Značilnosti posameznih oblik lepre so prikazane v tabeli 2, odnos med CPI, BI in klinično sliko pa na sliki 1.



**Slika 1.** Odnos med celičnim imunskim odzivom, bakterijskim indeksom in klinično sliko lepre (3). BB – mejna lepra (angl. *borderline leprosy*), BL – mejna lepromatozna lepra (angl. *borderline lepromatous leprosy*), BT – mejna tuberkuloidna lepra (angl. *borderline tuberculoid leprosy*), LL – lepromatozna lepra (angl. *lepromatous leprosy*), TT – tuberkuloidna lepra (angl. *tuberculoid leprosy*).

Drugo klasifikacijo je razvila SZO, da bi bila diagnoza lepre preprostejša, saj je v svetu največ novih primerov lepre v predelih, ki so odmaknjeni od zdravstvenih ustanov in zahtevnejša diagnostika ni mogoča. Je enostavnejša za uporabo, saj razdelitev temelji na številu kožnih lezij, ki se pojavijo pri bolniku, kot je razvidno iz tabele 3 (3, 15).

Klasifikaciji se prekrivata, tako da lahko istovetimo paucibacilarno lepro s tuberkuloidno lepro in multibacilarno lepro z lepromatozno lepro (3).

## KLINIČNA SLIKA Tuberkuloidna lepra

Za to klinično obliko je značilna hipopigmentirana ali eritematozna, običajno osamljena kožna sprememba s privzdignjenimi robovi, ki je dobro ločena od okolice in anestetična (bolnik v predelu lezije ne čuti dotika). Značilna je odsotnost kožnih adneksov in anhidroza. Pogosto zatipamo zadebeljen periferni živec, ki vodi do kožne spremembe, lahko pa gre tudi za nevritično obliko lepre, brez kožnih sprememb. Bolezenske spremembe so po telesu razporejene asimetrično.

**Tabela 2.** Ridley-Joplingova klasifikacija kliničnih oblik lepre (13). BB – mejna lepra (angl. *borderline leprosy*), BL – mejna lepromatozna lepra (angl. *borderline lepromatous leprosy*), BT – mejna tuberkuloidna lepra (angl. *borderline tuberculoid leprosy*), LL – lepromatozna lepra (angl. *lepromatous leprosy*), TT – tuberkuloidna lepra (angl. *tuberculoid leprosy*).

	TT	BT	BB	BL	LL
<b>Kožne spremembe in druge klinične značilnosti</b>	asimetrično razporejene makule s privzdignjenimi robovi, anhidroza, anestezija, odsotnost kožnih adneksov na mestu kožnih lezij	podobne kot pri TT, vendar številčnejše in večje	po obliki, številu in razporeditvi spominjajo na BB in LL	kot pri LL, vendar manj številne, odsotnost drugih kliničnih znakov, značilnih za LL	simetrično razporejene multiple makule/papule, ki napredujejo v plake/nodule, edem nog, hipogonadizem pri moških, madarozna, <i>facies leonina</i>
<b>Prizadetost perifernega živčevja</b>	številni asimetrično razporejeni, zadebeljeni periferni živci, pogosto tipni v bližini kožne spremembe	številni prizadeti, zadebeljeni periferni živci	pogosta	podobno kot pri LL, a se pojavi prej v poteku bolezni	pojavi se razmeroma pozno
<b>Leprominski kožni test</b>	močno pozitiven	močno pozitiven	negativen	negativen	negativen

**Tabela 3.** Klasifikacija oblik lepre Svetovne zdravstvene organizacije (15). BB – mejna lepra (angl. *borderline leprosy*), BL – mejna lepromatozna lepra (angl. *borderline lepromatous leprosy*), BT – mejna tuberkuloidna lepra (angl. *borderline tuberculoid leprosy*), LL – lepromatozna lepra (angl. *lepromatous leprosy*), TT – tuberkuloidna lepra (angl. *tuberculoid leprosy*).

	Paucibacilarna lepra	Multibacilarna lepra
<b>Število kožnih lezij</b>	≤ 5	≥ 6
<b>Prekrivanje z Ridley-Joplingovo klasifikacijo</b>	TT, BT	LL, BL, BB

Pri tuberkuloidni lepri gre za dober imunski odziv organizma na povzročitelja, ki uspe bolezenske spremembe zamejiti in v nekaterih primerih lahko bolezen izzveni tudi spontano (3, 4, 13).

### Mejna tuberkuloidna lepra

Kožne spremembe so podobne spremembam pri tuberkuloidni lepri, vendar niso tako dobro razmejene od okolice, anhidroza ni tako močno izražena, prav tako v kožnih spremembah ni opaziti izrazite odsotnosti kožnih adneksov. Zadebeljeni periferni živci so številčnejši (3, 4, 13).

### Mejna lepra

Pri tej obliki so kožne spremembe po svojih značilnostih (število in oblika) nahajajo med tuberkuloidno in lepromatozno lepro. Največkrat gre za eritematozne makule ali plake, ki imajo nepravilne robove in hipopigmentiran center (slika 2) (3, 4, 13).



**Slika 2.** Obsežna hipestetična in hipopigmentirana makula na hrbtu pri bolniku z mejno obliko lepre.

### Mejna lepromatozna lepra

Kožne spremembe so makule, papule in noduli, ki spominjajo na lepromatозno obliko, vendar niso tako številčni, tudi njihova razporeditev po telesu ni popolnoma simetrična. Prizadetost perifernih živcev se pojavi prej v poteku bolezni kot pri lepromatozni obliki. Odsotni so klinični znaki, ki so tipični za lepromatозno obliko: izpadanje trepalnic in obrvi (madaroz), keratitis in *facies leonina* (3, 4, 13).

### Lepromatozna lepra

Kožne spremembe so številne papule in/ali makule, ki so slabo ločene od okolice in po telesu razporejene simetrično. Značilno je, da niso anestetične, prav tako ne anhidrotične. Sčasoma se število kožnih sprememb večja, makule in papule nastajajo na novo, starejše kožne spremembe pa napredujejo v plake in nodule (slika 3). Zaradi zadebelitve kože obraza dobi bolnik značilen izgled – *facies leonina* ali levji obraz. Ob tem se značilno zadebelijo tudi uhlji. Pogosto se pojavi edem zgornjih in spodnjih okončin, posledično pa dobijo predvsem spodnje okončine voščen in sijoč videz. Pojavi se madroza, prizadeta je lahko sluznica zgornjih dihal v smislu rinitisa, lahko pa pride tudi do predrtja nosnega pretina in značilnega posedanja nosnega korena. Pri nekaterih bolnikih pride lahko do hripavosti zaradi infiltracije glasilk z bacili lepre. Za lepromatозno lepro niso značilni zadebeljeni periferni živci, razen če je bolezen napredovala iz mejnih oblik. Najprej se pojavijo senzorični nevrološki izpadi in šele kasneje motorični izpadi, zato imajo ti bolniki na okončinah opekline, majhne poškodbe in razjede. Sčasoma pride zaradi teh okvar do sekundarnih bakterijskih okužb ran, resorpcije kostnine in na koncu do amputacij delov okončin (slika 4, slika 5) (1, 3, 4, 13).

Zaradi prizadetosti kosti se pojavi osteoporoza in patološki zlomi. Pri moških pride zaradi infiltracije mod z bacili lepre





**Slika 3.** Bolnik z lepromatozno obliko lepre. Na koži hrbta so vidni številni plaki.



**Slika 4.** Trofične spremembe, značilne za bolnike z lepromatozno obliko lepre, ki nastanejo zaradi okvare perifernega živčevja.



**Slika 5.** Bolnik z lepromatozno obliko lepre. Amputirani prsti zaradi resorpcije kostnine in kot posledica več poškodb in opeklin zaradi izgube občutka za dotik.

do bolečine v modih, neplodnosti in ginekomastije. Pri lepromatozni obliki bolezni so prizadete tudi ledvice (glomerulonefritis, nefritis ali amiloidoza ledvic) in prav odpoved ledvic je pri teh bolnikih pogost vzrok smrti (16, 17).

### **POSEBNE KLINIČNE OBLIKE LEPRE** **Indeterminirana lepra**

To je »predstopnja« v razvoju bolezni. Kliničnih in histoloških sprememb ne moremo razvrstiti v noben razred Ridley-Joplingove klasifikacije. Običajno gre za posamezno makulo, ki lahko sčasoma spontano izzzveni ali napreduje v tuberkuloidno ali lepromatozno obliko lepre. Histološke spremembe spominjajo na kronični dermatitis (18).

### **Nenodularna difuzna lepra** **(Lucijeva lepra)**

Gre za skrajno obliko lepromatozne lepre, ki se pojavlja predvsem v predelih Mehike in Karibskih otokov in za katero je značilna

difuzna infiltracija kože, živcev in trebušnih organov (predvsem jeter in vranice) z *M. lepromatosis*. Koža ima miksedematozen in voskast izgled, kožni noduli ali makule so odsotni. Pri starejših bolnikih te kožne spremembe privedejo do zgglajenja kožnih gub na obrazu in mladostnejšega videza, zato to obliko lepre imenujejo tudi lepa lepra (špan. *lepra bonita*). Značilne so še zadebeljene ušesne mečice in rdečina zgornjih in spodnjih okončin. Druge spremembe, ki se pojavijo pri tej obliki, so še madarozna, obstruktivni rinitis, posedanje nosnega korena, glomerulonefritis in polinevropatija (19–21).

### **Nevritična lepra**

Za to obliko je značilna zgolj prizadetost perifernih živcev brez prizadetosti kože. Prisotna je pri 4–8 % obolelih. V večini primerov gre za mejno lepro ali mejno tuberkuloidno obliko lepre, ki se klinično kaže kot multipla mononevropatija. Bolezen lahko ostane omejena na periferno živčevje, sčasoma,



tudi čez več let, pa se lahko dodatno pojavijo za lepro značilne kožne spremembe (22, 23).

## LEPRA REAKCIJE

Lepra reakcije so akutna poslabšanja klinične slike pri bolnikih z lepro, ki nastanejo zaradi spremembe imunskega razmerja med bacili lepre in bolnikom. Sprožilni dejavniki lepra reakcij so lahko uvedba antibiotične terapije, nosečnost, okužba, hormonske spremembe in drugi, za bolnika stresni dejavniki. Ocenjujejo, da 20–30% bolnikov z lepro vsaj enkrat med potekom bolezni utрпи lepra reakcijo (3, 4). Poznamo dve obliki lepra reakcij, ki imata svoje značilnosti in jih lahko pričakujemo pri določnih kliničnih oblikah lepre.

### Lepra reakcija tipa 1 ali reverzna reakcija

Ta reakcija se pojavlja pri mejno lepromatozni in lepromatozni klinični obliki lepre, največkrat po uvedbi zdravljenja, ko se zmanjša bakterijsko breme in je organizem sposoben organizirati uspešnejšo obrambo proti bacilom lepre. Obstoječe kožne spremembe postanejo intenzivnejše – bolj eritematozne in edematozne. Pogosto se pojavi nevritis perifernih živcev, ki postanejo boleči in zadebeljeni, ob nepravčasnem ukrepanju pa se lahko pojavi ireverzibilna paraliza okvarjenega perifernega živca (3, 4).

### Lepra reakcija tipa 2

Lepra reakcija tipa 2 (lat. *erythema nodosum leprosum*) nastane ob razpadu velikih količin bacilov lepre. Ti sproščajo antigene, ki povzročijo alergično reakcijo. Značilni so sistemski znaki: bolniki imajo povišano telesno temperaturo, se slabo počutijo in imajo bolečine v sklepih in mišicah. Na okončinah se na novo pojavijo kožne spremembe, ki so značilne za nodozni eritem: podkožni vozlički, ki so boleči in pordeli (3, 4).

Posebna oblika te reakcije je Lucijev fenomen oz. reakcija, ki se pojavlja pri bolnikih s t. i. Lucijevo lepro (difuzno nenodularno ob-

liko lepre). Na okončinah se pojavijo eritematozne makule, ki napredujejo v ulkuse, ti pa za seboj puščajo trajne brazgotine (20, 21).

## LEPRA IN OKUŽBA Z VIRUSOM ČLOVEŠKE IMUNSKE POMANJKLJIVOSTI

Ob nastopu svetovne epidemije okužb s HIV oz. aids v 80. letih prejšnjega stoletja je bilo pričakovati, da se bo med bolniki, ki so okuženi s HIV, povečala incidenca lepre, tako kot je bilo to opaziti pri drugih boleznih, ki so povzročene z mikobakterijami (tuberkuloza, okužba z *Mycobacterium avium complex*). Vendar se incidenca lepre pri teh bolnikih ni povečala, pa tudi klinična slika lepre pri bolnikih z dvojno okužbo ni bila izrazitejša. To je nenavadno, saj se pri lepri, tako kot pri okužbah z drugimi mikobakterijami, tvorijo granulomi. Za tvorbo teh so potrebne celice CD4+, katerih število je pri obolelih z aidsom zmanjšano. Zakaj ima okužba z virusom HIV vpliv na (ne)tvorbo granulomov pri tuberkulozi, na (ne)tvorbo granulomov pri lepri pa ne, do danes še ni dokončno pojasnjeno (24).

Z uvedbo visoko učinkovitega protiretrovirusnega zdravljenja (angl. *highly active antiretroviral therapy*, HAART) pa iz predelov sveta, kjer sta okužbi z virusom HIV in lepro endemični (npr. Manaus v Amazoniji), poročajo o poslabšanju predhodnega kliničnega stanja lepre ali pa o kliničnem izražanju prej prikriti okužbe po uvedbi HAART. V teh primerih naj bi šlo za vnetni sindrom imunske obnove (angl. *immune reconstitution inflammatory syndrome*, IRIS) (25–27).

## KLINIČNI PREGLED IN LABORATORIJSKE PREISKAVE

Prvi klinični znaki, ki se pojavijo pri bolnikih z lepro, so v večini primerov kožne spremembe. Natančno moramo pregledati celotno površino kože in opredeliti kožne spremembe, testirati občutek za dotik v spremembah, ugotavljati morebitno odsotnost kožnih adneksov ter prisotnost/odsotnost

potenja v samih spremembah. Iščemo morebitne majhne poškodbe kože, opekline ali razjede, ki nastanejo na okončinah zaradi okrnjene senzorične funkcije (3, 4).

Izvesti moramo natančen nevrološki pregled, opisati morebitne mišične atrofije, oceniti grobo mišično moč in oceniti izpade sensorike. Nato sledi palpacija perifernih živcev. Ta naloga je precej zahtevna za neizkušeneja preiskovalca in potrebno je kar nekaj vaje, da tehniko usvojimo. Periferne živce palpiramo na značilnih mestih v njihovem poteku, kjer ti potekajo tik pod površino kože in ob kosti, tako da jih lahko pri palpaciji pritisnemo ob tršo površino. Pozorni smo tudi na morebitno bolečino ob palpaciji živcev, ki se pojavi pri lepra reakcijah (22, 23).

Iščemo tudi znake, ki se pojavijo pri lepromatozni obliki lepree, kot so izpadanje trepalnic in obrvi, hripavost, posedanje nosnega korena in predrtje nosnega pretina, zadebelitev ušesnih mečic ter preoblikovanje obraza (*facies leonina*) (3, 4).

Obvezen je pregled pri oftalmologu zaradi opredelitve morebitne prizadetosti oči v sklopu bolezni (4).

Odvzamemo kri za osnovne laboratorijske preiskave: C-reaktivno beljakovino (angl. *C-reactive protein*, CRP), hemogram, ionogram, hepatogram, albumini. Zaradi opredelitve delovanja ledvic je treba pregledati tudi seč (3, 4).

## DIAGNOZA

Zlati standard za diagnozo predstavlja biopsija kožne spremembe, ki omogoča natančen opis histoloških sprememb v koži in je

nujna za ustrezno klasifikacijo in posledično ustrezno zdravljenje. Histološke rezine obarvamo s hematoksilinom in eozinom za določitev histološke zgradbe in dodatno še po Ziehl-Neelsnu za obarvanje bacilov v tkivu. V zadnjem času se uveljavlja dokazovanje *M. leprae* in *M. lepromatosis* v koži s pomočjo verižne reakcije s polimerazo. Zaporedne biopsije prizadete kože nam omogočajo spremljanje uspeha zdravljenja. V primeru, da gre zgolj za prizadetost perifernega živčevja ali v primeru, da biopsija kože ni povedna, je na mestu biopsija perifernega živca. Treba je določiti tudi BI iz skarifikata kože, odvzete na več mestih (3, 4).

## ZDRAVLJENJE

V 40. letih 20. stoletja so začeli za zdravljenje lepree uporabljati sulfonamidni kemo-terapevtik dapson. To je bila prva učinkovita terapija proti prej neozdravljivi bolezni, bolniki pa so ga morali jemati do smrti. Za *M. leprae* in *M. lepromatosis* je dapson šibko baktericiden, zato se je nanj hitro razvila odpornost (4). Leta 1981 je SZO, podobno kot za zdravljenje tuberkuloze, uvedla zdravljenje z več antibiotiki hkrati (angl. *multi-drug-treatment*, MDT) (28). Cilj te terapije je bil preprečiti odpornost bacilov lepree na antibiotike in istočasno izkoreniniti ali vsaj zmanjšati pojavnost lepree v svetu. Terapija je sestavljena iz treh antibiotikov (dapson, rifampicin in klofazimin) in se razlikuje glede na to, ali gre za multibacilarno ali paucibacilarno obliko lepree (tabela 3). Zdravila SZO podari vsem državam, kjer je lepra endemična. Večino bolnikov je mogoče

**Tabela 3.** Režim zdravljenja za paucibacilarno in multibacilarno lepro (28).

	<b>Paucibacilarna lepra</b>	<b>Multibacilarna lepra</b>
<b>Dnevna doza</b>	dapson 100 mg	dapson 100 m klofazimin 50 mg
<b>Mesečna doza (enkrat mesečno v enkratnem odmerku)</b>	rifampicin 600 mg	rifampicin 600 mg klofazimin 300 mg
<b>Trajanje zdravljenja</b>	6–12 mesecev	24 mesecev

zdraviti ambulantno, bolnišnično zdravljenje je potrebno le v primeru, ko gre za hujše zaplete, kot so sepsa zaradi sekundarne bakterijske okužbe ali lepra reakcije (14).

### Zdravljenje lepra reakcij

Za zdravljenje lepra reakcij tipa 1 uporabljamo prednizolon v odmerkih 40–60 mg dnevno. Ker so v teh primerih ponovitve boleznih pogoste, s steroidi ne smemo prehitro prenehati in nadaljujemo zdravljenje z nizkimi vzdrževalnimi odmerki še nekaj mesecev (3, 4, 28).

Pri zdravljenju lepra reakcij tipa 2 lahko uporabljamo steroide, vendar je zdravljenje običajno dolgotrajno, zato se jih izogibamo. V teh primerih se poslužujemo talidomida, v odmerku 100–300 mg dnevno. Ker talidomid deluje teratogeno, moramo ob tem obvezno poskrbeti tudi za kontracepcijo (3, 4, 28).

Pojavnost lepra reakcij se je v zadnjih desetletjih močno zmanjšala, kar pripisujemo zdravljenju s klofaziminom, ki ima poleg antibiotičnega tudi močan protivnetni učinek (4).

### PREPREČEVANJE INVALIDNOSTI

Posebno mesto zavzema preprečevanje invalidnosti. Bolnike je treba natančno poučiti o poteku bolezni in mehanizmu nastanka poškodb na udih. Pomembno je poudariti, da je možno poškodbe in njihove posledice preprečiti, če izvajamo ustrezne ukrepe. Tako kot vsi bolniki z nevropatijo se morajo tudi bolniki z lepro držati določenih navodil, da bi se v čim večji meri izognili poškodbam udov, ki nastanejo kot posledica okrnjene senzorične funkcije prizadetih živcev. Nositi morajo primerno ortopedsko obutev, pravilno skrbeti za stopala in jih redno pregledovati (29, 30).

### CEPIVO

Cepljenje s cepivom bacille Calmet-Guerin (BCG), ki se sicer uporablja za cepljenje proti tuberkulozi, ima po opravljenih raziska-

vah v različnih geografskih področjih zelo različno učinkovitost proti razvoju lepre. Učinkovitost cepiva se giblje v razponu 34–80 % (14). V Braziliji se je cepljenje dojenčkov z BCG izkazalo kot učinkovita zaščita proti lepri (31). Indijska raziskava, ki je preučevala učinkovitost cepiva BCG z dodatkom inaktiviranega bacila *M. leprae*, je pokazala 64 % učinkovitost (32). Priporočila o cepljenju se razlikujejo glede na države in ni sprejete enotne svetovne doktrine glede cepljenja proti lepri. Potekajo številne raziskave, ki si prizadevajo razviti učinkovito cepivo (4).

### PREPREČEVANJE PRENOSA

Glede profilakse družinskih članov so mnenja deljena. V nekaterih endemičnih področjih se priporoča kemoprofilaksa z dapsonom pri svojih bolnikov, saj je tesen dolgotrajen stik z obolelim dejavnik tveganja za razvoj lepre. V neendemičnih državah se kemoprofilakse z dapsonom ne priporoča (14). Svoje moramo natančno poučiti o značilnostih lepre, ti pa morajo v primeru kakršnih koli znakov takoj poiskati zdravniško pomoč (4).

Naj še enkrat poudarimo, da je za uspešen prenos in okužbo z bacili lepre potreben dolgotrajen in tesen stik z obolelo osebo. Izolacija bolnikov, ki se je izvajala v preteklosti, ponekod pa še danes, nima nikakršne znanstvene osnove. Tudi medicinsko osebje pri pregledovanju in zdravljenju takih bolnikov potrebuje le osnovne zaščitne ukrepe (3, 4).

### ZAKLJUČEK

Kljub temu da je lepra svoj epidemični vrh dosegla v fevdalni dobi, pa v nekaterih državah tropskega in subtropskega pasu ostaja prisotna še danes. Število obolelih je ponekod še vedno veliko, bolniki so pogosto odkriti v poznih fazah bolezni, ko so telesne okvare že nepovratne, posledica pa je trajna invalidnost obolelih. Trenutni svetovni programi se osredotočajo na zgodnje odkrivanje bolnikov, čimprejšnje ustrezno

zdravljenje in preprečevanje trajnih posledic. Največ se pričakuje od morebitnega cepiva, ki bi prebivalstvo v endemičnih deželah zaščitilo pred boleznijo.

## ZAHVALA

Zahvaljujeva se prof. dr. Piklju za vztrajnost, potrpežljivost in neprecenljivo strokovno

mentorstvo pri nastajanju prispevka. Prav tako se zahvaljujeva osebju St. Francis Hospital Buluba v Ugandi za gostoljubje, strokovno vodstvo in enkratno izkušnjo pri vpogledu v obravnavo bolnikov z lepro. Tam so bile z dovoljenjem medicinskega osebja in pacientov posnete tudi vse fotografije, ki so last avtoric članka.

---

## LITERATURA

- Šercer A, Grmek MD. Lepra. In: Medicinska enciklopedija. Zagreb: Jugoslavenski lekskografski zavod; 1969. p. 270–5.
- Han XY, Sizer KC, Velarde-Felix JS, et al. The leprosy agents *Mycobacterium lepromatosis* and *Mycobacterium leprae* in Mexico. *Int J Dermatol*. 2012; 51 (8): 952–9.
- Gill GV, Beeching NJ. *Lecture Notes on Tropical Medicine*. 5<sup>th</sup> ed. Chicester: Blackwell Science Ltd; 2004.
- Farrar J, Hotez P, Junghanss Gagandeep T, et al., eds. *Manson's Tropical Diseases*. 22<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Saunders Ltd; 2009.
- Monot M, Honore N, Garnier T, et al. On the origin of Leprosy. *Science*. 2005; 308 (5724): 1040–2.
- Lockwood D, Suneetha S. Leprosy: too complex a disease for a simple elimination paradigm. *Bulletin of the World Health Organization*. 2005; 83 (3): 230–5.
- World Health Organization. *Weekly epidemiological record*. WHO. 2017; 93: 445–56.
- Ezzedine K, Malvy D, Beylot C, et al. Autochthonous leprosy in metropolitan France presenting with a diffuse infiltration of the face and febrile illness. *Int J Dermatol*. 2009; 48 (1): 69–72.
- Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature*. 2001; 409 (6823): 1007–11.
- Katoch VM. The contemporary relevance of the mouse foot pad model for cultivating *M. leprae*. *Lepr Rev*. 2009; 80 (2): 120–3.
- Truman RW, Singh P, Sharma R, et al. Probable zoonotic leprosy in the Southern United States. *N Engl J Med*. 2011; 364 (17): 1626–33.
- Ghorpade A. Inoculation (tattoo) leprosy: a report of 31 cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2002; 16 (5): 494–9.
- Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1966; 34 (3): 255–73.
- Britton WJ, Lockwood DNJ. Leprosy. *Lancet*. 2004; 363 (9416): 1209–19.
- WHO Expert Committee on Leprosy. Seventh report. Geneva: World Health Organization. Tech Rep Ser. 1998; 874: 1–43.
- Bezerra da Silva G, Alves Barbosa D, de Moura Barros R, et al. Amiloidose e insuficiencia renal cronica terminal associada a hanseniose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2010; 43 (4): 474–6.
- Bezerra da Silva G, de Francesco Daher E. Renal involvement in leprosy: retrospective analysis of 461 cases in Brazil. *Braz J Inf Dis*. 2006; 10 (2): 107–12.
- Eichelmann K, Gonzalez SE, Salas-Alanis JC, et al. Leprosy. An update: definition, pathogenesis, classification, diagnosis and treatment. *Actas Dermosifiliogr*. 2013; 104 (7): 554–63.
- Golchai J, Zargari O. Lepromatous leprosy with extensive unusual ulcerations and cachexia. Is it the first case of Lucio's phenomenon from Iran? *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 2004; 72 (1): 56–9.

20. Ang P, Tay YK, Ng SK, et al. Fatal Lucio's phenomenon in 2 patients with previously undiagnosed leprosy. *J Am Acad Dermatol.* 2003; 48 (6): 958–61.
21. Kaur C, Thami GP, Mohan H. Lucio phenomenon and Lucio leprosy. *Clin Exp Dermatol.* 2005; 30 (5): 525–7.
22. Jardim MR, Antunes SL, Santos AR, et al. Criteria for diagnosis of pure neural leprosy. *J Neurol.* 2003; 250 (7): 806–9.
23. Khadilkar SV, Yadav RS, Soni G. A practical approach to enlargement of nerves, plexuses and roots. *Pract Neurol.* 2015; 15 (2): 105–15.
24. Daps PD, Lockwood DN. Leprosy occurring as immune reconstitution syndrome. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008; 102 (10): 966–8.
25. Schettini APM, Jonas BR, Rebelo PF, et al. Leprosy and AIDS in the Amazon basin. *Int J Lepr and Other Mycobact Dis.* 1996; 64 (2): 171–3.
26. Talhari C, De Lima Ferreira LC, Ribamar Araujo J, et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome of upgrading type 1 reaction? Report of two AIDS patients presenting a shifting from borderline lepromatous leprosy to borderline tuberculoid leprosy. *Lepr Rev.* 2008; 79 (4): 429–35.
27. Talhari C, Lima Machado PR, Ferreira LC, et al. Shifting of the clinical spectrum of leprosy in an HIV-positive patient: a manifestation of immune reconstitution inflammatory syndrome? *Lepr Rev.* 2007; 78 (2): 151–4.
28. WHO Study Group on Chemotherapy of Leprosy & World Health Organization. Chemotherapy of leprosy: report of a WHO study group; 1993 Nov 1–5; Geneva, Switzerland. Geneva (Switzerland): World Health Organization; c1994.
29. Brandsma JW, Van Brakel WH. WHO disability grading: operational definitions. *Lep Rev.* 2003; 74 (4): 366–73.
30. Yadav N, Kar S, Madke B, et al. Leprosy elimination: a myth busted. 2014; 5 (1): 28–32.
31. Duppre NC, Camacho LA, da Cunha SS, et al. Effectiveness of BCG vaccination among leprosy contacts: a cohort study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008; 102 (7): 631–8.
32. Sharma P, Mukherjee R, Talwar GP, et al. Immunoprophylactic effects of the anti-leprosy Mw vaccine in household contacts of leprosy patients: clinical field trials with a follow up of 8-10 years. *Lepr Rev.* 2005; 76 (2): 127–43.

Prispelo 18. 4. 2017



Jasna Klen<sup>1</sup>

## Novejše terapevtske skupine za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2

### *Newer Therapeutic Groups for the Treatment of Diabetes Type 2*

#### **IZVLEČEK**

KLJUČNE BESEDE: sladkorna bolezen tipa 2, zaviralci natrijevih glukoznih koprenašalcev 2, zaviralci encima dipeptidil peptidaze 4, agonisti receptorjev glukagonu podobnega peptida 1, srčno-žilna varnost

Sladkorna bolezen tipa 2 je kronična in napredujoča bolezen. V zadnjem desetletju so v klinično rabo prišle tri nove skupine antihyperglikemičnih zdravil, in sicer agonisti glukagonu podobnega peptida 1, zaviralci encima dipeptidil peptidaze 4 in zaviralci natrijevih glukoznih koprenašalcev 2. Približno polovica bolnikov s sladorno boleznijo tipa 2 umre zaradi srčno-žilnih zapletov, zato je pomembna srčno-žilna varnost in dobrobit nove terapije.

#### **ABSTRACT**

KEY WORDS: type 2 diabetes, sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors, dipeptidyl peptidase-4 inhibitors, glucagon-like peptide-1 receptor agonists, cardiovascular safety

Type 2 diabetes is a chronic and progressive disease. In the last decade, three new groups of antihyperglycaemic drugs, namely glucagon-like peptide-1 agonists, dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors have been clinically administered. Approximately half of patients with type 2 diabetes die from cardiovascular complications, therefore, cardiovascular safety and the benefit of new therapy are important.

<sup>1</sup> Asist. dr. Jasna Klen, dr. med., Klinični oddelek za abdominalno kirurgijo, Kirurška klinika, Univezitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; Diabetološka ambulanta, Zdravstveni dom Kočevje, Roška cesta 18, 1330 Kočevje; jasna.klen@gmail.com

## UVOD

Sladkorna bolezen tipa 2 (SBT2) je kronična in napredujoča bolezen. Ko pri bolnikih samo z nefarmakološkimi ukrepi ne dosežemo več ciljev zdravljenja, uvedemo farmakološko terapijo. Cilj je dober glikemični nadzor, ki ga moramo doseči brez velikih nihanj koncentracije glukoze v krvi. Na ta način dolgoročno preprečimo oz. odložimo predvsem makrovaskularne zaplete, trenutno pa imamo manj podatkov glede mikrovaskularnih zapletov.

Zdravljenje SBT2 je stopenjsko, metformin pa je še vedno temeljno zdravilo. Iz klinične prakse vemo, da to zdravljenje dolgoročno ni uspešno, tako da večina bolnikov sorazmerno hitro potrebuje dodatni peroralni antihiperглиkemik. Pri izboru zdravila v dvo- ali trojitnem zdravljenju se odločamo izrazito individualno, upoštevajoč tveganje za hipoglikemije, bolnikovo izhodno telesno težo in pridružene bolezni. Vsekakor pa pri izboru ostajata ključna vpliv na dober glikemični nadzor in bolnikova varnost.

V zadnjem desetletju so v klinično rabo prišle tri nove skupine antihiperглиkemikih zdravil, ki temeljijo na novih farmakoloških pristopih, in sicer zdravila z delovanjem na inkretinski sistem ter zdravila z delovanjem na pojav glukozurije. Prva so agonisti receptorjev glukagonu podobnega peptida 1 (angl. *glucagon-like peptide-1*,

GLP-1), ki spodbudijo sproščanje inzulina iz trebušne slinavke preko vezave na receptor GLP-1. Sproščanje inzulina preko signalne poti GLP-1 spodbudijo tudi zaviralci encima dipeptidil peptidaze 4 (DPP-4), ki upočasnijo razgradnjo inkretinov in s tem podaljšajo njihov čas delovanja. Drugi so zaviralci natrijevih glukoznih koprenašalcev 2 (angl. *sodium-glucose co-transporter-2*, SGLT-2), ki zavirajo reabsorpcijo glukoze v proksimalnih tubulih in s tem preko ledvic vplivajo na homeostazo glukoze (1). Ti so prikazani v tabeli 1.

## ZAVIRALCI ENCI MA DIPEPTIDIL PEPTIDAZE 4

DPP-4 je aminopeptidaza, ki se nahaja v ledvicah, pljučih, jetrih, limfocitih ter endoteljskih celicah (2). Proteolitični zaviralci encima DPP-4 preprečujejo hiter upad GLP-1 v plazmi po hranjenju, zato jih lahko imenujemo tudi ojačevalci inkretinov. V 80 % znižajo aktivnost DPP-4, kar vodi v dvakratno zvišanje biološke aktivnosti GLP-1. Zaradi omenjenega mehanizma pride do povečanega izločanja inzulina in zmanjšanega izločanja glukagona, posledično se znižajo vrednosti krvnega sladkorja tako na tešče kot tudi po hranjenju.

Plato znižanja glikiranega hemoglobina (HbA1c) dosežemo, ko je doseženo maksimalno zaviranje DPP-4, kar je pri vseh zaviralcih enako (3). Spol, starost, rasa in indeks

**Tabela 1.** Skupine novjših antihiperглиkemikov. GLP-1 – glukagonu podoben peptid 1 (angl. *glucagon-like peptide-1*), DPP-4 – dipeptidil peptidaza 4, SGLT-2 – natrijev glukozni koprenašalec 2 (angl. *sodium-glucose co-transporter-2*).

Skupine antihiperглиkemikov	Agonisti receptorjev GLP-1	Zaviralci encima DPP-4	Zaviralci SGLT-2
Predstavniki antihiperглиkemikov	Eksenatid in Eksenatid LAR	Sitagliptin	Dapagliflozin
	Liksisenatid	Vildagliptin	Empagliflozin
	Liraglutid	Saksagliptin	Kanagliflozin
	Dulaglutid	Linagliptin	Ertugliflozin
	Semaglutid		



telesne mase ne vplivajo na farmakokinetiko in ta je enaka tako pri zdravih osebah kot tudi pri bolnikih s SBT2 (4).

Trenutno aktualni zaviralci v Sloveniji so sitagliptin, vildagliptin, saksagliptin in linagliptin.

### **Sitagliptin: farmakokinetika in farmakodinamika**

Sitagliptin je prvi potentni peroralni zaviralec s hitrim začetkom in dolgim delovanjem (5, 6). Zaradi dolge razpolovne dobe se odmerja le enkrat dnevno. Le 38 % sitagliptina je reverzibilno vezanega na plazemske beljakovine, zato tudi ni klinično pomembnih medsebojnih delovanj zdravilo – zdravilo (7, 8).

79 % sitagliptina se v nespremenjeni obliki z aktivno tubulno sekrecijo in glomerulno filtracijo primarno izloči skozi ledvice v seč. Pri zmerni okvari ledvičnega delovanja je treba znižati odmerek sitagliptina na 50 mg, pri hudi okvari pa na 25 mg. V 54 tednov trajajoči raziskavi so ugotovili, da je ta prilagoditev odmerka ustrezna za dober glikemični nadzor in je primerna tudi za bolnike na hemodializi (9). V raziskavi TECOS (Trial Evaluating Cardiovascular Outcomes with Sitagliptin) so bolniki, tudi tisti z znižanim odmerkom sitagliptina na 50 mg, zaradi ocenjene glomerulne filtracije (oGF)  $\geq 30$  in  $< 50$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, tega dobro prenašali, prav tako ni bilo razlik glede varnosti (10).

Približno 16 % sitagliptina se presnovi v jetrih, zato pri blagi in zmerni okvari jeter ni treba prilagajati odmerka (11). Po 12 ali 24 tednih v primerjavi s placebom sitagliptin ni pomembno zmanjšal stopnje zamaščenosti jeter ali fibroze (12–14). Pri prekomerno težkih japonskih bolnikih s SBT2 je sitagliptin zmanjšal vsebnost maščob v jetrih (15). Pri kitajski populaciji bolnikov s SBT2, ki so imeli nealkoholno zamaščenost jeter, pa se je v 52 tednih trajajoči raziskavi izkazalo, da sitagliptin ne vpliva na porast aminotransferaz (16).

V skupini 122 bolnikov s SBT2, ki so imeli kronično okvaro jeter, med drugim tudi cirozo, je sitagliptin pokazal občutno znižanje HbA1c in jetrnih encimov (17).

Pri starejši populaciji s SBT2 so dokazali, da je sitagliptin varen, ker nima vpliva na nastanek srčno-žilnih dogodkov, prav tako se je izboljšal HbA1c in ni bilo več hipoglikemij (18, 19).

### **Vildagliptin: farmakokinetika in farmakodinamika**

Vildagliptin ni encimski substrat, induktor ali zaviralec citokroma P450, zato ne vstopa v medsebojno delovanje z ostalimi zdravili (20). Krajša razpolovna doba vildagliptina zahteva odmerjanje dvakrat na dan. S sečem se ga izloči 85 %, preostanek pa z blatom.

Spol ali pa indeks telesne mase ne vplivata na farmakokinetiko, prav tako ni treba prilagajati odmerka. Enako velja za starostnike (21).

Sistemska izpostavljenost vildagliptinu je pri bolnikih z vsemi stopnjami ledvične odpovedi v primerjavi z bolniki z normalnim delovanjem ledvic povečana (22). Vildagliptin so dobro prenašali bolniki z blago ali zmerno okvaro delovanja ledvic (23). Randomizirane nadzirane raziskave z vildagliptinom so pri bolnikih z zmerno do hudo ledvično odpovedjo pokazale dober klinični profil glede učinkovitosti in varnosti. Še več, pri bolnikih z napredovalo kronično ledvično odpovedjo in prilagojenim odmerkom zdravila so ugotavljali klinično pomembno znižanje HbA1c, brez nevarnosti porasta števila hipoglikemij (24).

Pri bolnikih z blago, zmerno ali pa hudo okvaro jeter ni treba prilagajati odmerka vildagliptina. Vendar je uporaba vildagliptina pri bolnikih z že znano jetrno okvaro ali pa dvainpolkrat povišanimi vrednostmi transaminaz odsvetovana (25).

## **Saksagliptin: farmakokinetika in farmakodinamika**

Saksagliptin je močan kompetitiven zaviralec encima DPP-4. Zaradi prisotnosti aktivnega presnovka BMS-510849 je primeren za enkratno odmerjanje. Primarno poteka presnova preko citokroma P450 3A4/5, zato velja posebna previdnost pri zaviralcih in induktorjih tega sistema. V takem primeru uporabimo le polovičen odmerek zdravila. Znano pa je, da odmerka glede na starost in spol ni treba prilagajati.

Saksagliptin se v 12–29 % izloča z ledvicami. Glede na priporočila proizvajalca je treba pred uvedbo zdravila periodično preverjati delovanje ledvic. Bolniki z zmerno in hudo okvaro delovanja ledvic ne smejo prejemati več kot 2,5 mg na dan, hemodializni bolniki pa vzamejo zdravilo po hemodializi.

Raziskava, ki je vključila bolnike z vsemi stopnjami okvare jeter po Child-Pughovi klasifikaciji, je dokazala varno uporabo zdravila, vendar proizvajalec opozarja na previdno uporabo pri bolnikih z zmerno okvaro jeter, pri bolnikih s hudo okvaro pa uporabo odsvetuje (26).

## **Linagliptin: farmakokinetika in farmakodinamika**

Za razliko od ostalih zaviralcev ima linagliptin edinstvene farmakološke lastnosti. Kemijsko je to metilksantin z daljšo razpolovno dobo (131 ur) in se odmerja enkrat na dan. Hrana ne vpliva na absorpcijo. Primarno se izloča preko jeter in biliarnega sistema, v 80 % v nespremenjeni obliki (8). V primeru blage, zmerne in hude ledvične odpovedi oz. pri končni odpovedi ledvic ni treba prilagajati odmerka (27).

Iz randomiziranih placebo nadziranih raziskav je razvidno, da je linagliptin uspešen zaviralec in ga bolniki s SBT2 in obolenji jeter dobro prenašajo (28). Vseeno pa moramo biti pozorni pri bolnikih z napredovalo cirozo jeter (29).

## **Klinična učinkovitost zaviralcev encima dipeptidil peptidaze 4**

Znano je, da zaviralci encima DPP-4 manj učinkovito znižajo glukozo od sulfonilsečnin, metformina ali pa agonistov receptorja GLP-1. Če jih uporabimo v monoterapiji ali kombinaciji z ostalimi antihiperglukemiki, znižajo delež HbA1c v povprečju za 0,30 do 0,71 odstotnih točk. V kombinaciji z metforminom znižajo krvni sladkor po obroku v povprečju do 3 mmol/l. Učinek na znižanje deleža HbA1c doseže plato, ko je zavrt > 80 % DPP-4. Zdravila nimajo učinka na telesno težo, v kombinaciji z metforminom pa so opažali njeno blago znižanje (4).

## **Varnost zaviralcev encima dipeptidil peptidaze 4**

Pri vseh omenjenih zaviralcih moramo biti pozorni tudi na morebitne neželene učinke, ki pa so redki. Več hipoglikemij so opazili v primeru, ko so zaviralce encima DPP-4 dodali k sulfonilsečninam. Zaradi mehanizma delovanja je pri zaviralcih encima DPP-4 desetkrat manjša možnost nastanka hipoglikemij kot pri sulfonilsečninah (26, 30). V raziskavi SAVOR-TIMI 53 (Saxagliptin Assessment of Vascular Outcomes Recorded in Patients with Diabetes Mellitus-Thrombolysis in Myocardial Infarction 53) je bilo število hipoglikemij višje v saksagliptinski skupini, navkljub temu pa je bila glikemija izboljšana (31). Pojavnost hipoglikemij je bila v raziskavi EXAMINE (Examination of Cardiovascular Outcomes With Alogliptin Versus Standard of Care in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Acute Coronary Syndrome) enaka tako v alogliptinski skupini kot v placebo skupini (32). Enake rezultate so dobili tudi v raziskavi CARMELINA (Cardiovascular and Renal Microvascular Outcome Study With Linagliptin). V skupini z linagliptinom se je hipoglikemija pojavila pri 29,7 % bolnikov (33). Pri kombinaciji zaviralca encima DPP-4 in inzulina v primerjavi s samim inzulinom so zadnje metaanalize randomiziranih ra-

ziskav pokazale dober glikemični nadzor brez povečanega števila hipoglikemij (34). Pri starejših in krhkih ter tistih s posebnimi poklici, kot so vozniki, je izboljšanje glikemije brez hipoglikemij zelo pomembno, zato so omenjeni zaviralci encima DPP-4 dobra terapevtska izbira (35).

Skupno so opravili 165 randomiziranih kontroliranih raziskav, ki so vključile bolnike s SBT2, ki so prejeli alogliptin, linaagliptin, saksagliptin, sitagliptin ali pa vildagliptin ter bolnike, ki so prejeli placebo. Te raziskave niso pokazale zvišane pojavnosti neželenih učinkov na prebavo (36). Dejavniki tveganja za nastanek akutnega pankreatitisa so povišana koncentracija trigliceridov v krvi, žolčni kamni, z alkoholom povezane bolezni in že obstoječe bolezni trebušne slinavke (37). Zadnji izsledki raziskav SAVOR-TIMI 53 (saksagliptin), EXAMINE (alogliptin) in TECOS (sitagliptin) so pokazali, da je pojavnost akutnih pankreatitisov pomembno zvišana v primerjavi s placebom, saj so jih spremljali še dve do tri leta po zaključku raziskave. Vendar pa je treba poudariti, da je bila razlika absolutnega tveganja majhna (38). Pri analizi podatkov danske populacije niso našli večjega tveganja za nastanek akutnega pankreatitisa v primerjavi s tistimi, ki so bili na dieti oz. ki so prejeli drugo antihyperglikemično zdravilo (39). Nenazadnje pa je internacionalna, multicentrična raziskava treh držav (Kanada, ZDA, Združeno kraljestvo Velike Britanije in Severne Irske) dokončno potrdila, da v primeru uporabe zaviralcev ni večjega tveganja za nastanek akutnega pankreatitisa, četudi prejemo zdravilo daljše obdobje (40). Zaviralci encima DPP-4 nimajo vpliva na tveganje za razvoj malignoma trebušne slinavke. Razmerje ogroženosti (angl. *hazard ratio*, HR) je 0,55, 95 % interval zaupanja (IZ) pa je 0,29–1,02 (41). Angioedem se je izkazal za redek neželeni učinek (42).

Po podatkih iz francoske farmakovigilance je bolj zaskrbljujoč pojav buloznega

pemfigoida, ki ga najbolj povezujejo z vildagliptinom (43). Nekaj novejših kliničnih primerov je pokazalo možno povezavo z nastankom bolečin v sklepih oz. sklepnih vnetij. Metaanaliza 69 raziskav je pokazala, da je vildagliptin tisti, ki je najbolj povezan s pojavom bolečin v sklepih. Mehanizem naj bi temeljil na citokinsko sproženem vnetju (44, 45). Na drugi strani pa so v Ameriki našli celo znižano pojavnost revmatoidnega artritisa in avtoimunskih bolezni (46). Metaanalize in opazovalne raziskave niso pokazale pomembne povezave med zlomi in uporabo zaviralcev encima DPP-4 (47). Nasprotno, zdravila naj bi celo pomagala pri izgradnji kosti in zmanjšanju resorpcije kostnine (48).

Izkazalo se je, da imajo uporabniki zaviralcev encima DPP-4 znižano tveganje za nastanek periferne arterijske okluzivne bolezni (PAOB) in posledično tudi manj amputacij (49).

## AGONISTI GLUKAGONU PODOBNEGA PEPTIDA 1

Inkretini so del endokrinega sistema in sodelujejo pri fiziološkem uravnavanju homeostaze glukoze. Na tešče se izločajo majhne količine GLP-1 in se povečajo takoj po vnosu hrane. Znano pa je, da imajo lahko sladkorni bolniki znižane vrednosti aktivnega GLP-1. GLP-1 in gastrični inhibitorni polipeptid, ki se izločata iz L- in K-celic tankega črevesja, povečata sintezo in sproščanje inzulina iz  $\beta$ -celic trebušne slinavke. Med drugim GLP-1 tudi zmanjšuje izločanje glukagona iz  $\alpha$ -celic trebušne slinavke. S tem se zmanjša tvorba glukoze v jetrih, kar se odraža z nižjimi vrednostmi glukoze v krvi. Le 10–15 % ga vstopa v sistemski krvni obtok. Razgradnja GLP-1 in gastričnega inhibitornega polipeptida poteka s pomočjo encima DPP-4 v portalni veni in jetrih. GLP-1 lahko dodatno učinkuje preko aktivacije visceralnih aferentnih nevronov. Po drugi strani pa centralno uravnava vnos hrane, potrošnje energije, delovanje

prebavnega sistema, torej upočasni praznjenje želodca in zmanjša izločanje kisline, posledično se zmanjšata apetit in telesna teža. Poleg vsega zgoraj naštetega pa tudi zniža lipoproteine v krvi, vnetje ter sistolični krvni tlak. Glukoregulatorni učinek GLP-1 je primarno posredovan z aktivacijo transmembranskih receptorjev GLP-1, ki se nahajajo na površini  $\beta$ -celic trebušne slinavke. GLP-1 uravnava tudi izražanje genov  $\beta$ -celic trebušne slinavke, zavira apoptozo  $\beta$ -celic, jih ščiti pred glukolipotoksičnostjo in izboljšuje njihovo delovanje (50).

Agonisti receptorjev GLP-1 so polipeptidi, zato jih podobno kot inzulin injiciramo podkožno. Glede na strukturo jih delimo na eksendinu in človeškemu GLP-1 podobne. Glede na čas aktivacije receptorjev pa jih delimo v dve skupini, kratkodelujoče spojine, ki zagotavljajo kratkotrajno aktivacijo receptorja GLP-1, torej v nekaj urah dosežejo vrh koncentracije, po šestih do desetih urah pa se koncentracije zelo znižajo ali pa celo dosežejo vrednost nič, in dolgodelujoče spojine, ki aktivirajo receptor nepretrgoma, dlje časa in se lahko dajejo enkrat dnevno ali pa enkrat tedensko (51).

V Sloveniji so na voljo naslednji agonisti receptorjev GLP-1: eksenatid in eksenatid s podaljšanim sproščanjem, liksisenatid, liraglutid ter dulaglutid in semaglutid.

### **Kratkodelujoči agonisti: farmakokinetika in farmakodinamika**

Kratkodelujoča agonista sta: eksenatid (Byetta®), ki je bil najdlje proučevan in prvi odobren za klinično uporabo, in liksisenatid (Lyxumia®).

Eksenatid ima približno 50 % aminokislin enakih kot človeški GLP-1 in podobno afiniteto za receptorje GLP-1. Zgodnje raziskave so pokazale, da po 30 tednih zdravljenja dvakrat na dan omenjeno zdravilo vpliva na vrednost glukoze na tešče in tudi na vrednost po obroku. Izloča se skozi ledvice.

Liksisenatid se vnaša enkrat na dan in je zasnovan kot C-terminalna modifikacija s šestimi ostanki lizina in odsotnostjo enega prolina, kar omogoča fiziološko razgradnjo s pomočjo DPP-4. Zdravilo se izrazito močno veže na receptor. Absorpcija je hitra. V 55 % se veže na beljakovine. Liksisenatid se izloča z glomerulno filtracijo, nato tubulno reabsorpcijo.

### **Dolgodelujoči agonisti: farmakokinetika in farmakodinamika**

Dolgodelujoči agonist liraglutid (Victoza®) je modificirana oblika GLP-1 z zamenjavo aminokisline serin z argininom ter stransko verigo C16 palmitoil maščobne kisline na lizinu, ki dovoljuje vezavo na serumski albumin in tako poveča odpornost na razgradnjo z DPP-4. Po podkožni injekciji liraglutida enkrat na dan je plazemska koncentracija stabilna do 13 ur, dosežemo pa tudi 24-urni nadzor krvnega sladkorja. Več kot 98 % liraglutida je vezanega na beljakovine v plazmi. Liraglutid se presnavlja enako kot velike beljakovine in tako noben organ ne velja za glavno pot izločanja.

Ostali trije dolgodelujoči analogi GLP-1 dostopni v Sloveniji, ki se dajejo enkrat tedensko, so eksenatid s podaljšanim sproščanjem/LAR (Bydureon®) in dulaglutid (Trulicity®) ter semaglutid (Ozempic®).

Eksenatid LAR se sprošča bifazno iz mikrodolcev. Hitro doseže vrh, nato je sproščanje počasnejše. Dajemo ga neodvisno od hrane, kadar koli v dnevu. Terapevtski odmerek dosežemo v dveh tednih.

Dulaglutid je sestavljen iz dveh enakih analognih peptidnih verig GLP-1 (približno 90 % homolognih z nativnim človeškim GLP-1), povezanih s težko verigo imunoglobulina G4 (IgG4). Dodatek IgG4 poveča velikost peptida, kar pomaga zmanjšati hitrost ledvičnega očistka, medtem ko Fc-fragment (angl. *fragment crystallizable region*) IgG4 preprečuje nastajanje protiteles za nadaljnje zmanjšanje potenciala za imunološ-

ko citotoksičnost. Najvišje koncentracije v plazmi doseže v 48 urah. Razgrajuje se preko splošnih poti razgradnje beljakovin v aminokislino (51).

Semaglutid ima 94 % aminokislin enakih kot nativni GLP-1, prav tako tristrukturno modifikacijo, ki mu omogoča manjšo dovzetnost za razgradnjo. Na ta način se mu razpolovna doba podaljša na en teden, torej ga uporabljamo enkrat tedensko, saj vemo, da se več kot 99 % semaglutida veže na plazemske albumine, zato je sistemsko odstranjevanje počasnejše in absorpcija odložena. Presnovki se primarno izločajo s sečem in blatom (52).

### **Klinična učinkovitost**

Zaradi razlik v trajanju delovanja agonistov receptorjev GLP-1 obstajajo razlike v uravnavanju koncentracije glukoze v krvi. Odloženo praznjenje želodca je močnejše povezano s kratkodelujočimi agonisti receptorjev GLP-1, kar ima za posledico večje učinke na koncentracijo glukoze v krvi po obroku. Po drugi strani pa daljša razpolovna doba dolgoročnih agonistov receptorjev GLP-1 omogoči boljše uravnavanje koncentracije glukoze, vključno s plazemsko glukozo na tešče. Lahko jih uporabljamo kot monoterapijo in znižajo delež HbA1c za 0,7–1,51 ali pa v kombinaciji z ostalimi peroralnimi antihyperglukemiki ali kot del trojitne terapije in na ta način še dodatno znižajo delež HbA1c za 0,4–1,9. Telesna teža pa se zniža v povprečju za 0,2–4 kg. Še posebej učinkoviti pa so pri bolnikih z indeksom telesne mase nad 30 kg/m<sup>2</sup> (51).

### **Varnost agonistov receptorjev glukagonu podobnega peptida 1**

Glede na dosedanje raziskave so najpogostejši neželeni učinki, ki pa se največkrat pojavijo takoj ob uvedbi terapije: slabost (8–44 %), bruhanje (4–18 %) in driska (6–20 %). Za zdaj še ni popolnoma jasno, ali nastanejo omenjeni neželeni učinki zaradi vpliva na prebavno funkcijo ali pa zaradi ne-

posrednega vpliva na osrednji živčni sistem, bodisi z dostopom do možganov preko področij brez krvno-možganske pregrade ali pa posredno preko receptorjev na vejah aferentnih parasimpatičnih živcev. Slabost in bruhanje sta manj pogosta ob uporabi oblik s podaljšanim sproščanjem. Četudi spadajo v isto skupino, je pojavnost neželenih učinkov odvisna tudi od sestave, odmerka zdravila in osnovne antihyperglukemične terapije (metformin) (53).

Agonisti receptorjev GLP-1 so povezani z zelo nizkim tveganjem za hipoglikemije, previdnost pa velja, ko jih uporabljamo v kombinaciji z ostalimi antihyperglukemiki, kot je npr. sulfonilsečnina (54).

Sladkorni bolniki tipa 2 so trikrat bolj ogroženi za nastanek akutnega pankreatitisa kot zdrave osebe, vendar za zdaj mehанизmi še niso pojasnjeni. V raziskavi ELIXA (Evaluation of LIXisenatide in Acute Coronary Syndrome) se je izkazalo, da je število akutnih pankreatitisov v skupini z liksisenatidom manjše (55). V postmarketinških raziskavah pa se je pri posameznih uporabnikih eksanatida pojavil akutni pankreatitis. Malignom trebušne slinavke se je v raziskavi z eksenatidom pojavil v obeh skupinah v enakem številu. Bolniki s povečanim tveganjem za medularni adenom ali adenokarcinom ščitnice in pa s sindromom multiple endokrine neoplazije 2 ne smejo biti zdravljeni z agonisti receptorjev GLP-1 (56). Zanimivo pa je, da je bilo v skupini s semaglutidom prisotnih pomembno več krvavitev v steklovino, slepote ali pa stanj, ki so zahtevala npr. fotokoagulacijo ( $p = 0,2$ ) (52).

### **ZAVIRALCI NATRIJEVIH GLUKOZNIH KOPRENAŠALCEV 2**

Dnevno se skozi ledvice prefiltrira okrog 180 g glukoze. Največja kapaciteta ledvične reabsorpcije glukoze je 375 mg/min. Pri osebah z normalno glukozno toleranco je ledvični prag za glukozo nižji od te vrednosti, tako da se vsa glukozna reabsorbira in glukozurija ni prisotna. Pri zdravih osebah

se izloča glukoza v seč, ko plazemska koncentracija glukoze preseže vrednost 10 mmol/l. Vsa glukoza, ki se v glomerulih filtrira v primarni seč, se v proksimalnih tubulih reabsorbira nazaj v kri preko natrij glukoznih prenašalcev (SGLT-2: 80–90 % in SGLT-1: 10–20 %), ki se nahajajo na apikalni membrani proksimalnih zavrtih tubulov. SGLT-2 je koprenašalec z visoko kapaciteto in slabo afiniteto in se nahaja v prvem segmentu tubula. Koprenašalci SGLT-1 pa imajo nizko kapaciteto in visoko afiniteto in se nahajajo tudi v prebavnem sistemu, kjer sodelujejo pri absorpciji glukoze iz prebavil. Učinkovitost ni odvisna od ohranjenosti delovanja  $\beta$ -celic trebušne slinavke, torej od izločanja in delovanja inzulina. Hiperglikemijo zmanjšujejo z zmanjšanjem reabsorpcije glukoze v proksimalnih zavrtih ledvičnih tubulih. Na ta način znižajo ledvični prag za izločanje glukoze in posledično povzročijo glukozurijo. Količina izločene glukoze v seč je odvisna od nivoja hiperglikemije in glomerulne filtracije in znaša približno 80 g/dan (57).

V Sloveniji imamo na voljo dva zaviralca SGLT-2, in sicer dapagliflozin in empagliflozin, pričakujemo pa še ertugliflozin.

### **Dapagliflozin, empagliflozin in kanagliflozin: farmakokinetika in farmakodinamika**

Biorazpoložljivost dapagliflozina je 78 % in je ne spremeni hrana z visoko vsebnostjo maščob, tako da se zdravilo lahko vzame neodvisno od hrane. Zelo hitro se absorbira, najvišje koncentracije v plazmi doseže uro do uro in pol po zaužitju. Na beljakovine se ga veže 78 %, razpolovna doba je 13 ur, zato ga odmerjamo enkrat na dan. Medsebojno delovanje z drugimi antihiperglikemiki ni znano. Pri bolnikih s hudo jetrno okvaro moramo odmerek znižati na 5 mg.

Empagliflozin je najbolj selektiven za SGLT-2. Vzame se ga enkrat na dan, neodvisno od hrane, največji dnevni odmerek je 25 mg na dan. V 40 % se izloči z blatom in

v 55 % s sečem. Vsi zaviralci SGLT-2 imajo podaljšano jetrno presnovo pretežno z glukoronidacijo v neaktivne presnovke.

Kanagliflozin, ki ga ni v Sloveniji, se običajno priporoča pred prvim obrokom v odmerku 100 mg (starostniki) in se titrira do 300 mg. Biorazpoložljivost je 65 %. V 99 % se veže na beljakovine. Najvišje koncentracije v plazmi doseže po eni do dveh urah. Pri odmerku 300 mg je razpolovna doba 13 ur. Medsebojno delovanje z drugimi zdravili ni znano. Pri bolnikih s hudo jetrno okvaro se uporaba ne priporoča (58).

### **Klinična učinkovitost zaviralcev natrijevih glukoznih koprenašalcev 2**

Znižujejo telesno težo (za 1,4–3,5 kg), vrednosti holesterola ter sečne kisline. Zaradi diuretičnega učinka znižujejo tudi krvni tlak (za 3–6 mm Hg) (58). Številne raziskave so pokazale, da v monoterapiji znižajo delež HbA1c za 0,80–1,03, v kombinaciji z drugimi antihiperglikemiki pa za 0,71–0,93 (59).

### **Varnost zaviralcev natrijevih glukoznih koprenašalcev 2**

Zaviralci SGLT-2 ne povečujejo tveganja za hipoglikemijo. Od neželenih učinkov se najpogosteje pojavljajo glivične okužbe, ki so posledica glukozurije ( $\geq 6,4$  % pri ženskah in 3–4 % pri moških). Običajno zadostuje lokalno antimikotično zdravljenje, po prenehanju težav ni treba ukinjati zdravila. Pri dapagliflozinu se lahko pogosteje pojavlja nazofaringitis.

V nekaj kliničnih raziskavah z dapagliflozinom so opažali povečano tveganje za pojav raka mehurja, dojke in prostate, vendar vzročne povezave za zdaj niso uspeli dokazati.

Pri bolnikih s SBT2 se redko razvije življenjsko ogrožajoča diabetična ketoacidoza, vendar pa moramo biti zelo previdni pri bolnikih, ki imajo značilne simptome, tudi če nimajo visokih vrednosti krvnega sladkorja.



Posebno opozorilo za uporabo pa velja pri hipotenzivnih bolnikih, bolnikih z ledvičnimi obolenji in tistih na diuretikih (predvsem diuretiki zanke) ter starostnikih. V tem primeru je priporočljivo spremljanje prostornine telesnih tekočin in koncentracije elektrolitov (59).

V literaturi je opisanih nekaj primerov bolnikov, ki so ob jemanju zaviralcev SGLT-2 razvili Fourniejevo gangreno. V nekaterih primerih so imeli bolniki dejavnike tveganja za omenjeno gangreno, drugi le okužbe spolovil. Vsekakor je treba pred uvedbo terapije pomisliti na omenjeno stanje (60).

## **PREGLED NAJPOMEMBNEJŠIH RAZISKAV S Poudarkom NA SRČNO-ŽILNI VARNOSTI, PA TUDI NOVEJŠA DOGNANJA GLEDE LEDVIČNEGA IZHODA**

Bolniki s SBT2 so dvakrat do štirikrat bolj ogroženi za razvoj bolezni srca in žilja. Te so glavni vzrok za prezgodnjo smrt. Približno polovica jih zaradi omenjenega tudi umre. Ateroskleroza je pospešena. Biološka uporabnost dušikovega oksida se zniža zaradi hiperglikemije in odpornosti na inzulin. Omenjeni stanji povzročata kopičenje prostih radikalov, kar vodi v endotelijsko disfunkcijo, posledično se povišajo vrednosti vnetnih citokinov. Pomembno vlogo pa igra tudi protrombotično okolje. Pri SBT2 je okrnjena sinteza kolagena in stabilizacija plaka zaradi zmanjšane migracije gladkih mišičnih celic. Žilno preoblikovanje je moteno, kar poveča tveganje za ishemijo in ulkuse pri bolnikih s PAOB. Poleg znanih neodvisnih dejavnikov za razvoj bolezni srca pa je prisotna tudi povečana aktivnost simpatičnega živčnega sistema. Hiperglikemija in odpornost na inzulin pa sta povezani tudi z nevrohumoralnimi nenormalnostmi. Kot vemo, dobra urejenost glikemije zniža tveganja za mikrovaskularne zaplete, ni pa trdnih dokazov, kakšen vpliv ima na makrovaskularne zaplete. Pri bolnikih s SBT2 z boleznijo srca in žilja ter tistih, ki imajo

visoko tveganje za njegov razvoj, imajo vse tri nove skupine antihiperglikemikov spodbuden srčno-žilni zaščitni učinek (61).

## **Zaviralci encima dipeptidil peptidaze 4**

SAVOR-TIMI 53, EXAMINE, TECOS so bile multicentrične, randomizirane, dvojno slepe s placebom nadzorovane raziskave, ki so vključile 5.380–16.492 bolnikov s SBT2, ki so imeli tveganje za ali pa že znano bolezen srca in žilja. Vse tri raziskave so imele enake primarne opazovane dogodke, in sicer srčno-žilno smrt, neusodni miokardni infarkt ali pa neusodno ishemično kap.

V raziskavi SAVOR-TIMI 3 je bilo po dveh letih v skupini s saksagliptinom 7,3% primarnih opazovanih dogodkov, v skupini s placebom 7,2%. Glede na Kaplan-Meierjevo krivuljo so se v skupini, ki je prejela saksagliptin, pojavili srčno-žilna smrt, miokardni infarkt, kap, bolnišnično zdravljenje zaradi nestabilne angine pectoris, koronarna revaskularizacija ali srčno popuščanje v 12,8%, v skupini s placebom pa v 12,4% ( $p = 0,66$ ). Pri bolnikih, ki so prejeli saksagliptin, je bilo statistično pomembno več hospitalizacij zaradi srčnega popuščanja ( $p = 0,007$ ). Izkazalo pa se je, da je tudi manj zmernih ali pa visokih zvišanih albuminurije (31).

Za razliko od raziskave SAVOR-TIMI 3 so v EXAMINE vključili bolnike, ki so bili 15–90 dni pred vključitvijo bolnišnično zdravljeni zaradi akutnega miokardnega infarkta ali pa nestabilne angine pectoris. V omenjeni raziskavi se je v skupini z alogliptinom zgodilo 11,3% primarnih opazovanih dogodkov in v placebo 11,8% ( $p = 0,32$  za superiornost,  $p < 0,001$  za neinferiornost). V obeh skupinah so začeli s hemodializami v enakem časovnem obdobju (32).

Po številu vključenih bolnikov je bila raziskava TECOS največja. Primarni opazovani dogodek se je v skupini s sitagliptinom pojavil v 11,4%, v skupini s placebom v 11,6%.

Zaključili so, da je sitagliptin neinferioren napram placebo ( $p < 0,001$ ). Prav tako ni bilo med skupinama razlik glede bolnišničnega zdravljenja zaradi srčnega popuščanja ( $p = 0,98$ ) (62).

Na osnovi vseh treh raziskav lahko zaključimo, da je pri bolnikih, ki že imajo bolezen srca in žilja, načeloma varno uporabiti vse tri zaviralce encima DPP-4, vsekakor pa nimajo protektivnega učinka. Izkazalo se je, da ni bilo več srčno-žilne in splošne umrljivosti. Na drugi strani pa je bilo pri bolnikih, ki so prejeli saksagliptin, več bolnišnično zdravljenih zaradi srčnega popuščanja.

Nekoliko drugačna pa je bila raziskava CARMELINA, ki je trajala 2,2 leti in je bilo vanjo vključenih 6.979 bolnikov s SBT2 s tveganjem ali že po prebolelem srčno-žilnem dogodku. 74 % bolnikov je imelo že ugotovljeno zmerno ali visoko zvišanje albuminurije ali pa oGF pod 75 ml/min z visokim zvišanjem albuminurije ali pa kronično levično odpoved z oGF pod 45 ml/min. Tudi tukaj so primerjali učinkovino linagliptin s placebo. Primarni opazovani dogodek je bil opredeljen kot v zgoraj omenjenih raziskavah. 12,4 % je bilo srčno-žilnih dogodkov v skupini, ki je prejela linagliptin in 12,1 % v placebo skupini ( $p < 0,001$  za neinferiornost). Dokazali so, da linagliptin ni inferioren v primerjavi s placebo pri bolnikih, ki so že preboleli srčno-žilni dogodek oz. imajo visoko tveganje zanj ter so ogroženi za kronično oz. končno odpoved ledvic (33).

Dosedanje raziskave so v glavnem primerjale aktivno učinkovino s placebo, raziskava CAROLINA (Cardiovascular Outcome study of Linagliptin Versus Glimepiride in Patients with Type 2 Diabetes) pa je primerjala dve učinkovini: linagliptin in glimepirid. Tudi v tej raziskavi so dokazali neinferiornost linagliptina v primerjavi z glimepiridom, čeprav se moramo zavedati, da je bila vključena populacija s kratkim trajanjem bolezni (63).

## **Agonisti receptorjev glukagonu podobnega peptida 1**

Tudi na področju uporabe agonistov receptorjev GLP-1 je bilo narejenih nekaj obsežnih raziskav: ELIXA, EXSCEL (Exenatide Study of Cardiovascular Event Lowering), LEADER (Liraglutide Effect and Action in Diabetes: Evaluation of Cardiovascular Outcome Results) in REWIND (Reseaching Cardiovascular Events with a Weekly Incretin in Diabetes). V glavnem so bile multicentrične, randomizirane, dvojno slepe s placebo nadzorovane raziskave, ki so vključile 6.068–14.752 bolnikov in so trajale od dveh do petih let.

V ELIXO so vključili bolnike s SBT2, ki so predhodno utrpeli akutni miokardni infarkt ali pa so bili 180 dni pred vključitvijo bolnišnično zdravljeni zaradi nestabilne angine pektoris. Poleg standardne terapije so prejeli liksisenatid ali pa placebo. Primarni opazovani dogodek je bil enak kot pri vseh prej omenjenih raziskavah. V skupini z liksisenatidom so se glavni neželeni srčno-žilni dogodki (angl. *major adverse cardiovascular events*, MACE) zgodili v 13,4 %. Vsekakor niso dokazali superiornosti liksisenatida napram placebo ( $p = 0,81$ ). Med skupinama ni bilo razlik v številu bolnišnično zdravljenih zaradi srčnega popuščanja ali v številu smrti (relativno tveganje (angl. *relative risk*, RR) je 0,94; 95 % IZ = 0,78–1,13). Prav tako je ugodno vplival na znižanje proteinurije, kar ni bilo odvisno od izhodne vrednosti HbA1c (64, 65).

V raziskavi EXSCEL v skupini s placebo je bilo nekoliko več MACE. Poleg tega je bil glede varnosti dolgodelujoči eksenatid neinferioren napram placebo ( $p < 0,001$ ) in prav tako ni bil superioren glede učinkovitosti ( $p = 0,06$ ). Med skupinama ni bilo statistično pomembnih razlik glede srčno-žilne umrljivosti, usodnega in neusodnega miokardnega infarkta, neusodne ali usodne kapi, bolnišničnega zdravljenja zaradi srčnega popuščanja in akutnega koronarnega dogodka (66).



V skupini z liraglutidom je bilo pomembno manj srčno-žilnih dogodkov, in sicer 13,0 % ( $p < 0,001$  za neinferiornost,  $p = 0,01$  za superiornost). Prav tako jih je manj umrlo zaradi srčno-žilnega ( $p = 0,007$ ) ali kakršnega koli drugega vzroka ( $p = 0,02$ ). Statistično nepomembno manj je bilo neusodnih miokardnih infarktov, kapi in bolnišničnega zdravljenja zaradi srčnega popuščenja. Število mikrovaskularnih zapletov (nefropatij, retinopatij) je bilo manjše v skupini z liraglutidom (RR = 0,84; 95 % IZ = 0,73–0,97;  $p = 0,02$ ) (67).

V do sedaj najdaljšo raziskavo REWIND je bilo vključenih le 31 % bolnikov, ki so imeli znano bolezen srca in žilja. K obstoječi standardni terapiji so dodali dulaglutid ali placebo. Primarni opazovani dogodek je bil ponovno prvi pojav MACE, medtem ko je sekundarni opazovani dogodek poleg vseh komponent primarnega vseboval še pojav nefropatije ali retinopatije, bolnišnično zdravljenje zaradi nestabilne angine pektoris, srčnega popuščenja in smrt zaradi vseh vzrokov. Preeliminarni rezultati so pokazali, da se v skupini, ki je prejela dulaglutid tako pri bolnikih, ki so ali pa niso imeli že znane bolezni srca in žilja, dokazano zmanjša število srčno-žilnih dogodkov (68).

V juniju 2019 je na naše tržišče prišel tudi semaglutid. V raziskavo SUSTAIN-6 (Semaglutide Unabated Sustainability in Treatment of Type 2 Diabetes) so vključili 3.297 bolnikov s SBT2, od tega je imelo 83 % že znano bolezen srca in žilja, kronično ledvično odpoved ali pa oboje. 104 tedne so poleg ustaljene terapije prejeli semaglutid enkrat tedensko ali pa placebo. Tritočkovni MACE so se pojavili pri 6,6 % bolnikov, ki so prejeli semaglutid ( $p < 0,001$  za neinferiornost). Pri obeh skupinah so bolniki utrpeli miokardni infarkt in smrt zaradi srčno-žilnega vzroka v približno enakem odstotku ( $p = 0,12$ ). V skupini s placebom je več (2,7 %) bolnikov utrpelo možgansko kap ( $p = 0,04$ ) in manj je bilo akutnih ledvičnih odpovedi oz. akutnih poslabšanj kronične ledvične odpovedi (52).

Številne raziskave so tako potrdile, da je pri bolnikih s SBT2 in boleznimi srca in žilja uporaba agonistov receptorjev GLP-1 varna.

## Zaviralci natrijevih glukoznih koprenašalcev 2

V raziskavo EMPA-REG (Empagliflozin Cardiovascular Outcome Event Trial in Type 2 Diabetes Mellitus Patients–Removing Excess Glucose) je bilo vključenih 7.020 bolnikov s SBT2 z znano boleznijo srca in žilja ter oGF več kot 30 ml/min, ki so poleg standardne terapije prejeli še empagliflozin ali placebo. V skupini, ki je prejela empagliflozin, je bilo 10,5 % primarnih opazovanih dogodkov (RR v skupini z empagliflozinom = 0,86; 95 % IZ = 0,74–0,99;  $p = 0,04$  za superiornost). V omenjeni raziskavi se je izkazalo, da je v skupini z empagliflozinom statistično pomembno nižja umrljivost zaradi srčno-žilnih dogodkov (38 % relativno zmanjšanje tveganja), manj bolnišnično zdravljenih zaradi srčnega popuščenja (35 % relativno zmanjšanje tveganja) in smrti zaradi katerega koli vzroka (32 % relativno zmanjšanje tveganja). Pri bolnikih po koronarnih obvodih, ki so prejeli empagliflozin, so opazili izrazito znižanje srčno-žilne umrljivosti ali umrljivosti zaradi vseh vzrokov, zdravljenja v bolnišnici zaradi srčnega popuščenja in nastanka ali poslabšanja ledvične odpovedi. S temi podatki so dokazali pomen sekundarne preventive srčno-žilnih dogodkov po koronarnih obvodih pri omenjeni skupini bolnikov (69–71).

PAOB je eden najpogostejših makrovaskularnih zapletov in je napovednik srčno-žilne umrljivosti. V podskupino EMPA-REG so bili vključeni bolniki, ki so imeli narejeno angioplastiko, stentiranje, obvodno operacijo, amputacijo spodnje okončine ali pa pomembno stenozo v enem ali več udih in gleženjski indeks  $< 0,9$  in  $\geq 1$ . Primarni opazovani dogodek je bil enak kot v predhodnih raziskavah. Pri bolnikih,

ki so prejeli empagliflozin, se je srčno-žilna umrljivost znižala za 43 %, smrt zaradi vseh vzrokov pa za 38 %. Prav tako je bilo manj tri- in štiritočkovnih MACE (16 %, 7%). V visokem odstotku (44 %) je bilo manj tudi bolnišničnega zdravljenja zaradi srčnega popuščanja. Za 46 % pa je bilo manj akutnih ledvičnih odpovedi ali pa poslabšanj kroničnih ledvičnih odpovedi. V placebo skupini je bilo 3,3 % velikih amputacij spodnjih okončin. Več je bilo manjših amputacij v skupini z empagliflozinom. Na drugi strani pa je bilo pri bolnikih brez PAOB, ki so prejeli empagliflozin, amputacij spodnje okončine le 0,9 % (RR = 1,30; 95 % IZ = 0,69–2,46). Število velikih amputacij je bilo v obeh skupinah enako. Manjših amputacij v skupini z empagliflozinom pa je bilo 0,8 % (72).

V raziskavo EMPA-REG so bili vključeni tudi bolniki z napredovalo ledvično boleznijo, in sicer oGF 30 ml/min ali več. Empagliflozin je upočasnil napredovanje ledvične odpovedi, prav tako je bilo v tej skupini manj klinično pomembnih ledvičnih dogodkov (73).

Obstaja kar nekaj teorij o mehanizmih srčno-žilne zaščite empagliflozina. Vsekakor nekaj prispeva pomembno znižanje sistoličnega krvnega tlaka. Na ta način se zniža sistolična obremenitev (angl. *afterload*) in se zmanjša poraba kisika v miokardu. Empagliflozin poveča izločanje natrija in s tem zmanjša znotrajžilno prostornino. Lahko vpliva na nevrohormonalno pot, kot je npr. zaviranje renin-angiotenzin-aldosteronskega sistema. K izboljšanju delovanja srca pripomore blaga hiperketonemija, ki je razlog za povečano absorpcijo in oksidacijo  $\beta$ -hidroksibutirata. Vsi ti mehanizmi pomembno vplivajo na manjše tveganje za pojav srčnega popuščanja.

Številni celični in molekularni mehanizmi so pri srčno-žilnih in ledvičnih obolenjih podobni. Natrijev klorid povzroči, da *macula densa* aktivira tubuloglomerularno povratno zvezo in vodi do vazokonstrikcije

aferentne arteriole, zmanjšanja glomerulne hiperfiltracije in normalizacije znotrajglomerulnega pritiska. Znano je, da zdravljenje z zaviralci SGLT-2 prehodno zniža oGF, vendar kasneje zaradi ugodnih vplivov na ledvično-žilne učinke upočasnjuje napredovanje kronične ledvične bolezni in njenih zapletov (61).

Program Canvas je bil sestavljen iz dveh raziskav, in sicer CANVAS (Canagliflozin Cardiovascular Assessment Study) in CANVAS R (Canagliflozin Cardiovascular Assessment Study-Renal) in je trajal v povprečju 188,2 tedna. Tudi tukaj so proučevali srčno-žilno, ledvično in splošno varnost. Vključenih je bilo 10.142 bolnikov s SBT2 in visokim tveganjem za srčno-žilne dogodke (65,6 %). V skupini s kanagliflozinom je bilo manj primarnih opazovanih dogodkov (RR = 0,86; 95 % IZ = 0,75–0,97;  $p < 0,001$  za neinferiornost;  $p = 0,02$  za superiornost), poslabšanj kronične in končne ledvične odpovedi ali pa smrti (RR = 0,53; 95 % IZ = 0,33–0,84). Raziskava CANVAS je pokazala povečano tveganje za amputacije, primarno na nivoju prstov ali stopalnic, mehanizem pa še ni popolnoma jasen (RR = 1,97; 95 % IZ = 1,41–2,75) (74).

Na drugi strani pa je bila raziskava CREDENCE (Canagliflozin and Renal Events in Diabetes with Established Nephropathy Clinical Evaluation) zasnovana nekoliko drugače, saj je proučevala predvsem ledvični izhod pri bolnikih s SBT2 in že znanim kroničnim ledvičnim obolenjem (oGF  $\geq 30$  do  $< 90$  ml/min in albuminurijo; razmerje albumin/kreatinin  $> 300$  do  $\leq 5000$  mg/g). Bolniki, ki so prejeli zaviralec angiotenzinske konvertaze ali pa zaviralec angiotenzina II, so bili razdeljeni v skupino s placebo ali pa canagliflozinom. Zaradi ponovno ugodnih rezultatov je bila raziskava predčasno končana. Tudi tukaj je bilo tveganje za ledvično odpoved in srčno-žilne dogodke manjše v skupini s kanagliflozinom (75).

Raziskava DECLARE-TIMI 58 (Dapagliflozin Effect on Cardiovascular Events, faza 3)

je bila multinacionalna, randomizirana, dvojno slepa in nadzorovana s placebom. Vključenih je bilo 17.160 bolnikov s SBT2, od tega je bilo 10.186 bolnikov brez aterosklerotične srčno-žilne bolezni. Izkazalo se je, da dapagliflozin ni inferioren napram placebo glede na MACE, vendar pa ni zmanjšal števila MACE (RR = 0,93; 95 % IZ = 0,84–1,03; p = 0,17). Vsekakor pa je statistično pomembno znižal srčno-žilno umrljivost ali bolnišnično zdravljenje zaradi srčnega popuščanja (RR = 0,83; 95 % IZ = 0,73–0,95; p = 0,005). Prav tako ima ugoden vpliv na delovanje ledvic (76).

Navedene raziskave kažejo, da je sitagliptin glede vpliva na srčno-žilni sistem popolnoma nevtralen. Vsekakor pa velja razmislek pri predpisovanju saksagliptina, saj se je izkazalo, da je bilo v raziskavi SAVOR-TIMI 3 27 % več nepričakovanega bolnišničnega zdravljenja zaradi srčnega popuščanja. Pri bolnikih s SBT2 in srčnim popuščanjem z oslabiljeno sistolično funkcijo levega prekata, ki prejemo vildagliptin, so našli povečanje končnega sisto-

ličnega in diastoličnega volumna levega prekata. Sistolična funkcija levega prekata pa se ni dodatno znižala. Agonisti receptorjev GLP-1 so vsekakor varna in dobra skupina novejših antihiperglikemikov, še prav posebno težo pa imata liraglutid in semaglutid, saj sta pokazala statistično pomembno znižanje dogodkov tako v primarnem kot sekundarnem izhodu glede na placebo. Medtem ko sta empagliflozin in canagliflozin pokazala znižanje MACE, je imel dapagliflozin nevtralni učinek. Vsi trije zaviralci SGLT-2 pa so pomembno znižali število bolnišničnih zdravljen zaradi srčnega popuščanja. Zgoraj navedene raziskave so prikazane še v tabeli 2.

## ZAKLJUČEK

V Sloveniji je število bolnikov s SBT2 v porastu, 75–80 % jih umre zaradi bolezni srca in žilja. Zato je poleg nefarmakoloških ukrepov zelo pomembna ustrezna izbira zdravljenja, saj lahko na ta način zmanjšamo tveganje za invalidnost in smrt. Sedaj so dosegljive tri nove skupine zdravil, ki

**Tabela 2.** Preglednica najnovejših raziskav s področja srčno-žilne in ledvične varnosti. GLP-1 – glukagonu podoben peptid 1 (angl. *glucagone like peptide-1*), SGLT-2 – natrijev glukozni koprenašalec 2 (angl. *sodium-glucose co-transporter-2*).

Agonisti receptorjev GLP-1	Raziskava	Mediano spremljanje (leta)	Primarni opazovalni dogodek	Možganska kap	Umrlijivost			Ledvična okvara
					Srčno-žilna	Splošna	Srčno popuščanje	
liraglutid/placebo	LEADER	3,8	zniža	nevtravno	zniža	zniža	nevtravno	zniža
liksisenatid/placebo	ELIXA	2,1	nevtravno	nevtravno	nevtravno	nevtravno	nevtravno	vpliv na makroalbuminurijo
eksenatide-LAR/placebo	EXSCEL	3,2	zniža	nevtravno	nevtravno	zniža	nevtravno	
dulaglutid/placebo	REWIND	5	zniža	zniža	nevtravno	nevtravno	nevtravno	zniža
semaglutid/placebo	SUSTAIN-6	2,1	zniža	zniža	nevtravno	nevtravno	nevtravno	zniža
<b>SGLT - 2</b>								
empagliflozin/placebo	EMPA-REG	3,1	zniža	nevtravno	zniža	zniža	zniža	zniža
dapagliflozin/placebo	DECLARE-TIMI 58	4,2	nevtravno	nevtravno	nevtravno	zniža	zniža	zniža

imajo ugoden vpliv na glikemijo in povzročajo malo neželenih učinkov. Zdravila so varna za srčno-žilni sistem oz. prinašajo tudi dobrobit. Pri inkretinski terapiji imamo zelo raznolik farmakodinamski in farmakokinetski profil tako med agonisti receptorjev GLP-1 in zaviralci encima DPP-4 kot tudi znotraj iste skupine zdravil, tako da lahko terapijo prilagodimo glede na bolnikove želje in potrebe. Hkrati lahko z omenjeno terapijo rešimo tudi težave, kot so npr. debelost ali ledvična okvara. Tako kot agonisti GLP-1 imajo tudi zaviralci SGLT-2 pleotropne učinke, ki so med drugim pomembni pri bolnikih s srčnim popuščanjem. Z novo terapijo je tudi sodelovanje bolnika pri zdravljenju veliko boljše.

Najnovejše smernice ameriškega in evropskega diabetološkega združenja še vedno priporočajo v prvi liniji metformin. V primeru že znane aterosklerotične srčno-žilne bolezni uvedemo agoniste receptorjev GLP-1, pri bolnikih z oGF nad 60 ml/min pa zaviralec SGLT-2. Pri bolnikih, ki imajo srčno popuščanje, bi se prav tako odločili za uvedbo zaviralcev SGLT-2 (77). V smernicah evropskega kardiološkega združenja predlagajo pri bolnikih z znano srčno-žilno boleznijo in z več dejavniki tveganja že v prvi liniji uvedbo zaviralcev SGLT-2 ali pa agonistov receptorja GLP-1, kar je vprašljivo, saj je znano, da so imeli bolniki pri večini do sedaj narejenih raziskav že primarno uveden metformin (78).

---

## LITERATURA

1. Zaletel J, Barlovič PD. Zdravljenje hiperglikemije z zdravili. In: Zaletel J, Bratina N., eds. Slovenske smernice za klinično obravnavo sladkorne bolezni tipa 2. Ljubljana: Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in presnovne bolezni, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični oddelek za endokrinologijo, diabetes in bolezni presnove, Pediatrična klinika Ljubljana; 2016. p. 23–47.
2. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet*. 2006; 368 (9548): 1696–705.
3. Nauck M. Incretin therapies: highlighting common features and differences in the modes of action of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Diabetes Obes Metab*. 2016; 18 (3): 203–16.
4. Deacon CF. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes: a comparative review. *Diabetes Obes Metab*. 2011; 13 (1): 7–18.
5. Lyseng-Williamson KA. Sitagliptin. *Drugs*. 2007; 67 (4): 587–97.
6. Zerilli T, Pyon EY. Sitagliptin phosphate: a DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Clin Ther*. 2007; 29 (12): 2614–34.
7. Scheen AJ. Dipeptidylpeptidase-4 inhibitors (gliptins): focus on drug-drug interactions. *Clin Pharmacokinet*. 2010; 49 (9): 573–88.
8. Scheen AJ. Pharmacokinetics of dipeptidylpeptidase-4 inhibitors. *Diabetes Obes Metab*. 2010; 12 (8): 648–58.
9. Chan JC, Scott R, Arjona Ferreira JC, et al. Safety and efficacy of sitagliptin in patients with type 2 diabetes and chronic renal insufficiency. *Diabetes Obes Metab*. 2008; 10 (7): 545–55.
10. Engel SS, Suryawanshi S, Stevens SR, et al. Safety of sitagliptin in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease: outcomes from TECOS. *Diabetes Obes Metab*. 2017; 19 (11): 1587–93.
11. Vincent SH, Reed JR, Bergman AJ, et al. Metabolism and excretion of the dipeptidyl peptidase 4 inhibitor [<sup>14</sup>C]sitagliptin in humans. *Drug Metab Dispos*. 2007; 35 (4): 533–8.

12. Smits MM, Tonneijck L, Muskiet MH, et al. Twelve week liraglutide or sitagliptin does not affect hepatic fat in type 2 diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Diabetologia*. 2016; 59 (12): 2588–93.
13. Cui J, Philo L, Nguyen P, et al. Sitagliptin vs. placebo for nonalcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *J Hepatol*. 2016; 65 (2): 369–76.
14. Joy TR, McKenzie CA, Tirona RG, et al. Sitagliptin in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a randomized, placebo-controlled trial. *World J Gastroenterol*. 2017; 23 (1): 141–50.
15. Kato H, Nagai Y, Ohta A, et al. Effect of sitagliptin on intrahepatic lipid content and body fat in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2015; 109 (1): 199–205.
16. Deng XL, Ma R, Zhu HX, et al. Short article: a randomized-controlled study of sitagliptin for treating diabetes mellitus complicated by nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2017; 29 (3): 297–301.
17. Asakawa M, Mitsui H, Akihisa M, et al. Efficacy and safety of sitagliptin for the treatment of diabetes mellitus complicated by chronic liver injury. *Springerplus*. 2015; 4: 346.
18. Bethel MA, Engel SS, Green JB, et al. Assessing the safety of sitagliptin in older participants in the Trial Evaluating Cardiovascular Outcomes with Sitagliptin (TECOS). *Diabetes Care*. 2017; 40 (4): 494–501.
19. Umezawa S, Kubota A, Maeda H, et al. Two-year assessment of the efficacy and safety of sitagliptin in elderly patients with type 2 diabetes: post hoc analysis of the ASSET-K study. *BMC Endocr Disord*. 2015; 15 (1): 34.
20. Hennessy S, Keam SJ. Vildagliptin. *Drugs*. 2006; 66 (15): 1989–2001.
21. Croxtall JD, Keam SJ. Vildagliptin: a review of its use in the management of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*. 2008; 68 (16): 2387–409.
22. He YL, Flannery B, Wang Y, et al. The influence of renal impairment on pharmacokinetics of vildagliptin (Abstract P111-86). *Clin Pharmacol Ther*. 2007; 81 (1): S113.
23. Thuren T, Byiers S, Mohideen P, et al. Vildagliptin is safe and well tolerated in patients with mild or moderate renal impairment. *Diabetologia*. 2008; 51 (1): S36.
24. Trevisan R. The role of Vildagliptin in the therapy of type 2 diabetic patients with renal dysfunction. *Diabetes Ther*. 2017; 8 (6): 1215–26.
25. He YL, Sabo R, Campestrini J, et al. The influence of hepatic impairment on the pharmacokinetics of the dipeptidyl peptidase IV (DPP-4) inhibitor vildagliptin. *Eur J Clin Pharmacol*. 2007; 63 (7): 677–86.
26. Scheen AJ. The safety of gliptins: updated data in 2018. *Expert Opin Drug Saf*. 2018; 17 (4): 387–405.
27. Graefe-Mody U, Friedrich C, Port A, et al. Effect of renal impairment on the pharmacokinetics of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin. *Diabetes Obes Metab*. 2011; 13 (10): 939–46.
28. Inagaki N, Sheu WH, Owens DR, et al. Efficacy and safety of linagliptin in type 2 diabetes patients with self-reported hepatic disorders: a retrospective pooled analysis of 17 randomized, doubleblind, placebo-controlled clinical trials. *J Diabetes Complications*. 2016; 30 (8): 1622–30.
29. Scheen AJ. Pharmacokinetics in patients with chronic liver disease and hepatic safety of incretin-based therapies for the management of type 2 diabetes mellitus. *Clin Pharmacokinet*. 2014; 53 (9): 773–85.
30. Ceriello A, Sportiello L, Rafaniello C, et al. DPP-4 inhibitors: pharmacological differences and their clinical implications. *Expert Opin Drug Saf*. 2014; 13 Suppl 1: S57–68.
31. Scirica BM, Bhatt DL, Braunwald E, et al. Saxagliptin and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 2013; 369 (14): 1317–26.
32. White WB, Cannon CP, Heller SR, et al. Alogliptin after acute coronary syndrome in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2013; 369 (14): 1327–35.
33. Rosenstock J, Perkovic V, Johansen OE, et al. Effect of linagliptin vs placebo on major cardiovascular events in adults with type 2 diabetes and high cardiovascular and renal risk: the CARMELINA randomized clinical trial. *JAMA*. 2019; 321 (1): 69–79.
34. Yang W, Cai X, Gao X, et al. Addition of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors to insulin treatment in type 2 diabetes patients: a meta-analysis. *J Diabetes Investig*. 2017; 9 (4): 813–21.
35. Deacon CF, Lebovitz HE. Comparative review of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and sulphonylureas. *Diabetes Obes Metab*. 2016; 18 (4): 333–47.
36. Wu S, Chai S, Yang J, et al. Gastrointestinal adverse events of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis. *Clin Ther*. 2017; 39 (9): 1780–89.
37. Azoulay L, Filion KB, Platt RW, et al. Association between incretin based drugs and the risk of acute pancreatitis. *JAMA Internal Medicine*. 2016; 176 (10): 1464–73.
38. Tkac I, Raz I. Combined analysis of three large interventional trials with gliptins indicates increased incidence of acute pancreatitis in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2017; 40 (2): 284–86

39. Chou HC, Chen WW, Hsiao FY. Acute pancreatitis in patients with type 2 diabetes mellitus treated with dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: a population-based nested case-control study. *Drug Saf.* 2014; 37 (7): 521–8.
40. Thomsen RW, Pedersen L, Moller N, et al. Incretin-based therapy and risk of acute pancreatitis: a nationwide population-based casecontrol study. *Diabetes Care.* 2015; 38 (6): 1089–98.
41. Zhang Z, Chen X, Lu P, et al. Incretin-based agents in type 2 diabetic patients at cardiovascular risk: compare the effect of GLP-1 agonists and DPP-4 inhibitors on cardiovascular and pancreatic outcomes. *Cardiovasc Diabetol.* 2017; 16 (1): 31.
42. Hahn J, Trainotti S, Hoffmann TK, et al. Drug-induced inhibition of angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase 4 results in nearly therapy resistant bradykinin induced angioedema: a case report. *Am J Case Rep.* 2017; 18: 576–9.
43. Bene J, Moulis G, Bennani I, et al. Bullous pemphigoid and dipeptidyl peptidase IV inhibitors: a case-noncase study in the French Pharmacovigilance Database. *Br J Dermatol.* 2016; 175 (2): 296–301.
44. Mascolo A, Rafaniello C, Sportiello L, et al. Dipeptidyl peptidase (DPP)-4 inhibitor-induced arthritis/arthralgia: a review of clinical cases. *Drug Saf.* 2016; 39 (5): 401–7.
45. Bekiari E, Rizava C, Athanasiadou E, et al. Systematic review and meta-analysis of vildagliptin for treatment of type 2 diabetes. *Endocrine.* 2016; 52 (3): 458–80.
46. Kim SC, Schneeweiss S, Glynn RJ, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes may reduce the risk of autoimmune diseases: a population-based cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2015; 74 (11): 1968–75.
47. Mamza J, Marlin C, Wang C, et al. DPP-4 inhibitor therapy and bone fractures in people with Type 2 diabetes – A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016; 116: 288–98.
48. Yang Y, Zhao C, Liang J, et al. Effect of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors on bone metabolism and the possible underlying mechanisms. *Front Pharmacol.* 2017; 8: 487.
49. Chang CC, Chen YT, Hsu CY, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors, peripheral arterial disease, and lower extremity amputation risk in diabetic patients. *Am J Med.* 2017; 130 (3): 348–55.
50. Nauck MA, Vilsbøll T, Gallwitz B, et al. Incretin-Based Therapies. *Diabetes Care.* 2009; 32 Suppl 2: S223–31.
51. Nauck M. Incretin therapies: highlighting common features and differences in the modes of action of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Diabetes Obes Metab.* 2016; 18 (3): 203–16.
52. Marso SP, Bain SC, Consoli A, et al. Semaglutide and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2016; 375 (19): 1834–44.
53. Bettge K, Kahle M, Abd El Aziz MS, et al. Occurrence of nausea, vomiting and diarrhoea reported as adverse events in clinical trials studying glucagon-like peptide-1 receptor agonists: A systematic analysis of published clinical trials. *Diabetes Obes Metab.* 2017; 19 (3): 336–47.
54. Marso S, Daniels GH, Frandsen KB, et al. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2016; 375 (4): 311–22.
55. Pfeffer MA, Claggett B, Diaz R, et al. Lixisenatide in Patients with Type 2 Diabetes and Acute Coronary Syndrome. *N Engl J Med.* 2015; 373 (23): 2247–57.
56. Holman RR, Bethel MA, Mentz RJ, et al. Effects of Once-Weekly Exenatide on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2017; 377 (13): 1228–39.
57. Garcia-Ropero A, Badimon JJ, Santos-Gallego CG. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of SGLT2 inhibitors for type 2 diabetes mellitus: the latest developments. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2018; 14 (12): 1287–1302.
58. Scheen AJ. Pharmacodynamics, efficacy and safety of sodium-glucose co-transporter type 2 (SGLT2) inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Drugs.* 2015; 75 (1): 33–59.
59. Donnan JR, Grandy CA, Chibrikov E, et al. Comparative safety of the sodium glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2019; 9 (1): e022577.
60. Onder CE, Gursoy K, Kuskonmaz SM, et al. Fournier's gangrene in a patient on dapagliflozin treatment for type 2 diabetes. *J Diabetes.* 2019; 11 (5): 348–50.
61. Perrone-Filardi P, Avogaro A, Bonora E, et al. Mechanisms linking empagliflozin to cardiovascular and renal protection. *Int J Cardiol.* 2017; 241: 450–6.
62. Green JB, Bethel A, Armstrong PW, et al. Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015; 373 (3): 232–42.
63. Rosenstock J, Kahn SE, Johansen OE. Effect of Linagliptin vs Glimperide on Major Adverse Cardiovascular Outcomes in Patients With Type 2 Diabetes: The CAROLINA Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2019; 322 (12): 1155–66.

64. Pfeffer MA, Claggett B, Diaz R, et al. Lixisenatide in Patients with Type 2 Diabetes and Acute Coronary Syndrome. *N Engl J Med.* 2015; 373 (23): 2247–57.
65. Muskiet MHA, Tonneijck L, Huang Y, et al. Lixisenatide and renal outcomes in patients with type 2 diabetes and acute coronary syndrome: an exploratory analysis of the ELIXA randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018; 6 (11): 859–69.
66. Holman RR, Bethel MA, Mentz RJ, et al. Effects of Once-Weekly Exenatide on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2017; 377 (13): 1228–39.
67. Marso S, Daniels GH, Frandsen KB, et al. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2016; 375 (4): 311–22.
68. Gerstein HC, Colhoun HM, Dagenais GR, et al. Design and baseline characteristics of participants in the Researching cardiovascular Events with a Weekly INcretin in Diabetes (REWIND) trial on the cardiovascular effects of dulaglutide. *Diabetes Obes Metab.* 2018; 20 (1): 42–9.
69. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, et al. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2015; 373 (22): 2117–28.
70. Zinman B, Inzucchi SE, Wanner C, et al. Empagliflozin in women with type 2 diabetes and cardiovascular disease - an analysis of EMPA-REG OUTCOME. *Diabetologia.* 2018 ; 61 (7): 1522–7.
71. Verma S, Mazer CD, Fitchett D, et al. Empagliflozin reduces cardiovascular events, mortality and renal events in participants with type 2 diabetes after coronary artery bypass graft surgery: subanalysis of the EMPA-REG OUTCOME randomised trial. *Diabetologia.* 2018; 61 (8): 1712–23.
72. Verma S, Mazer CD, Omran MA, et al. Cardiovascular Outcomes and Safety of Empagliflozin in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Peripheral Artery Disease. *Circulation.* 2017; 137 (4): 405–7.
73. Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM, et al. Empagliflozin and Progression of Kidney Disease in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2016; 375 (4): 323–34.
74. Neal B, Perkovic V, Mahaffey KW, et al. Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2017; 377 (7): 644–57.
75. Perkovic V, Jardine MJ, Neal B. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. *N Engl J Med.* 2019; 380 (24): 2295–306.
76. Wiviott SD, Raz I, Bonaca MP. Dapagliflozin and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2019; 380 (4): 347–57.
77. American Diabetes Association. Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes – 2019. *Diabetes Care.* 2019; 42 Suppl 1: S1–2.
78. Cosentino F, Grant PJ, Aboyans V. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD. *Eur Heart J.* 2020; 41 (2): 255–323.

Prispelo 11. 7. 2019





Nina Kobal<sup>1</sup>, Bojana Beović<sup>2</sup>, Milica Lukič<sup>3</sup>, Vojka Gorjup<sup>4</sup>

# Fulminantni miokarditis z večorgansko odpovedjo zaradi okužbe z virusom influence A: prikaz primera

*Fulminant Myocarditis with Multiple Organ Failure Due to Type A Influenza Infection: A Case Report*

## IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: okužba z virusom influence, gripa, fulminantni miokarditis, kardiogeni šok, večorganska odpoved, zunajtelesna membranska oksigenacija

Gripa je akutna vročinska bolezen, ki se v večini primerov kaže kot samoomejujoča nezapletena okužba dihal. Kljub temu lahko povzroča številne hude zaplete na pljučih in tudi izven pljuč, ki se lahko končajo s smrtnim izidom. Ogroženi so predvsem starostniki in posamezniki s kroničnimi boleznimi ali imunsko pomanjkljivostjo. V članku predstavljamo pred okužbo popolnoma zdravo 46-letno bolnico, ki je v poteku gripe zbolela za fulminantnim miokarditisom s posledičnim kardiogenim šokom in večorgansko odpovedjo. Fulminantni miokarditis je dokaj redek zaplet gripe, ki ogroža življenje, zato sta hitra prepoznavna in ukrepanje ključnega pomena za preživetje bolnika, pa tudi za napoved obnove okvarjene srčne mišice. Med ukrepi imajo pomembno vlogo tako zunajtelesna membranska oksigenacija kot tudi podporni sistemi za srce. V prispevku bomo predstavili tudi lastnosti virusa influence A, poteka bolezni, ki jo povzroča, zaplete, do katerih lahko pride, in epidemiološke podatke o prijavljenih primerih v obdobju med januarjem in marcem leta 2019. Z zbranimi podatki smo želeli orisati problematiko gripe in nizke precepljenosti proti njej na Slovenskem. Cepljenje je namreč še vedno najbolj učinkovito sredstvo pri preprečevanju tako okužb z virusi influence kot tudi razvoju hudih zapletov.

<sup>1</sup> Nina Kobal, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; nina.kobal.nk@gmail.com

<sup>2</sup> Prof. dr. Bojana Beović, dr. med., Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva ulica 2, 1525 Ljubljana; Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Japljeva ulica 2, 1525 Ljubljana

<sup>3</sup> Asist. Milica Lukič, dr. med., Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Japljeva ulica 2, 1525 Ljubljana

<sup>4</sup> Prim. doc. dr. Vojka Gorjup, dr. med., Klinični oddelek za intenzivno interno medicino, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

## ABSTRACT

**KEY WORDS:** type A influenza infection, flu, fulminant myocarditis, cardiogenic shock, multiple organ failure, extracorporeal membrane oxygenation

The flu is an acute febrile illness that in most cases manifests as a self-limiting uncomplicated respiratory infection. However, it may also cause many severe complications outside the lungs, potentially ending with death. The elderly, as well as individuals with chronic diseases or immunodeficiency disorders are especially at risk for this outcome. This article will present a clinical case of a 46-year-old woman pre-infection, who contracted the flu and consequentially the fulminant myocarditis, which later led to cardiogenic shock and multiple organ failure. Fulminant myocarditis is a fairly rare life-threatening complication of influenza, so rapid recognition and action are crucial for the survival of the patient as well as for prognosing the recovery of the damaged heart muscle. Extracorporeal membrane oxygenation as well as heart support systems play an important role in the actions. The paper will also outline the characteristics of the influenza A virus itself, the course of the disease it causes, the complications that can occur and the epidemiological data on reported cases between January and March 2019. The collected data were intended to outline the problem of influenza and low vaccination rates in Slovenia. Vaccination is still the most effective means of preventing both influenza virus infections and the development of serious complications due to them.

## UVOD

Gripa je akutna vročinska bolezen dihal, ki se prenaša s človeka na človeka (1). V večini primerov gre za nezapleteno okužbo dihal s samoomejujočimi simptomi, vendar pa se lahko, predvsem pri starejših in ljudeh s kroničnimi boleznimi ali imunskimi pomanjkljivostmi, konča s smrtnim izidom (2, 3). Redko je potek gripe zelo hud in zapleten pri mladih ljudeh brez znanih kroničnih boleznih.

## VIRUSI INFLUENCE

Gripo povzročajo virusi influence, ki sodijo v družino *Orthomyxoviridae* (ortomiksovirusi). So predstavniki treh od petih rodov te družine: *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B* in *Influenzavirus C*. Naravni gostitelj virusov influence A so vodne ptice. Povzročijo lahko uničujoče izbruhe gripe pri perutnini in se včasih prenesejo tudi na sesalce. Pri ljudeh povzročajo epidemije in pandemije. Izmed vseh treh so virusi influence A najbolj patogeni in povzročajo pri ljudeh naj-

težje oblike boleznih. Glede na zunanje površinske antigene hemaglutinina (H) in nevraminidaze (N) jih delimo na 17 podtipov H in 10 podtipov N. Podtipi, ki so v preteklosti povzročili pandemije pri ljudeh, so H1N1, H2N2, H3N2 in H1N2. Virus influence B prizadene skoraj izključno ljudi. Edini živalski vrsti, ki se lahko simptomatsko okužita s to vrsto virusa, sta morski prašiček in mrož. Ta rod je genetsko manj raznolik in posledično tudi antigensko bolj stabilen, kot je rod virusa influence A. Zaradi pogostih okužb z virusom influence B že v mladosti in manjše genetske raznolikosti že zgodaj v poteku življenja razvijemo določeno stopnjo imunosti. Antigenske spremembe sicer omogočajo pojav boleznih ob novi okužbi, vendar pa se virus influence B ne more spremeniti tako, da bi povzročil pandemijo. Virus influence C je genetsko še bolj stabilen in predvsem pri otrocih povzroča prehladu podobne bolezni. Z njim se lahko okužijo ljudje, psi in prašiči. Pri prašičih lahko povzroči hudo obliko boleznih in lokalne epidemije (1).

Viruse influence obdaja maščobna ovojnica, iz katere med drugim v obliki bodice štrli glikoprotein nevraminidaza, ki omogoča izstopanje virusov iz okuženih celic. Njeno delovanje motijo zaviralci nevraminidaze, ki so eno izmed zdravil za gripo (1, 3).

## PATOGENEZA IN VIRULENCA VIRUSA

Virus pride praviloma v zgornja dihal, kjer povzroči okužbo, če uspe premagati lokalno zaščito, ki jo predstavljajo izločki dihal. Veže se predvsem na migetalčne epitelne celice sluznice dihal, lahko pa tudi na druge celice dihal (alveolne celice, mukozne celice, makrofage). Virusi se lahko pomnožujejo samo v živih celicah, iz katerih se po štirih do šestih urah sprostijo z brstenjem in okužijo okolne celice. Okužene celice izgubijo površinske migetalke, se zaokrožijo in nabreknejo, njihova jedra pa se razgradijo. Propad celice spremlja vnetje z edemom sluznice in infiltracija levkocitov. Virus influence povzroči tudi apoptozo celic. Kar trem beljakovinam, ki jih kodira genom virusa influence A, so dokazali apoptotsko dejavnost (1, 3, 4).

Resnost bolezni določa predvsem količina virusov in njihove lastnosti. Raziskave kažejo, da je vrsta in intenziteta imunskega odziva v največji meri odvisna od podtipa virusa. Virus okvari predvsem celice dihal, medtem ko so sistemski simptomi in znaki bolezni najverjetneje odraz delovanja citokinov, zlasti dejavnika tumorske nekroze  $\alpha$  (angl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* , TNF- $\alpha$ ), interferona  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), interlevkina 6 (IL-6) in interlevkina 8 (IL-8), ki se sprostijo iz okuženih celic dihal. Medsebojno delovanje virusa in odziv imunskega sistema gostitelja sta kritični determinanti za patogenezo bolezni. Nekatere raziskave navajajo, da naj bi bolj virulentni virusni sevi sprožili šibkejši protivirusni imunski odziv, ki ni dovolj učinkovit, da bi lahko preprečil širjenje virusa (5).

Odziv na okužbo je kompleksen in je preplet tako delovanja humoralnih in lokal-

nih protiteles, celične imunosti ter drugih odzivov. Serumska protitelesa, med katerimi so najpomembnejša protitelesa proti hemaglutininu, se začnejo pojavljati šele dva tedna po okužbi. Pomembna so tudi sekretorna protitelesa, ki so predvsem razreda imunoglobulin A in se tvorijo v dihalih. Oblike celičnega odziva so odvisne od predhodnega imunskega stanja gostitelja in vključujejo predvsem delovanje proliferativnih in citotoksičnih celic T ter celic ubijalk. Interferon lahko v izločkih dihal zasledimo kmalu po začetku izločanja virusa, njegovo povečano izločanje pa je povezano z zmanjšanim izločanjem virusa. Izločanje virusa se po navadi konča v prvem tednu po začetku simptomov, torej preden lahko s preiskavami odkrijemo pojav protiteles. Stopnja kužnosti je odvisna predvsem od genetskih lastnosti virusa in od številnih dejavnikov gostitelja. Hitrost širjenja je zelo povezana s količino virusa v zgornjih dihalih, z obnašanjem okuženih oseb, pri čemer je pomembna higiena kašlja in rok, seveda pa je pomembna tudi stopnja zaščite okuženega s predhodnimi okužbami s podobnimi virusi ali cepljenjem (1).

## EPIDEMIOLOGIJA

Gripa je razširjena po vsem svetu in se pojavlja predvsem v zimskem času v obliki večjih ali manjših epidemij. Vsako leto za to boleznijo zbolijo približno 5–10 % svetovnega prebivalstva, kar se kaže s tremi do petimi milijoni bolnišničnih zdravljenj, zaradi posledic gripe pa umre glede na podatke Svetovne zdravstvene organizacije okrog 650.000 ljudi letno (2, 6). Stroški zdravljenja gripe in njenih posledic so samo v Združenih državah Amerike ocenjeni na 87,1 milijarde dolarjev letno (7).

Virusi influence (predvsem A in B) se pogosto spreminjajo zaradi mutacij. Če pride do sprememb v glavnih površinskih antigenih (hemaglutinin in nevraminidaza), imenujemo ta pojav antigenetski odmik. Novi virus je dovolj drugačen, da lahko okuži

ljudi, ki so sicer zaščiteni proti prejšnjim virusom, vendar ne proti sedanjemu. Kljub temu pa so ti virusi še vedno precej podobni virusom, iz katerih so nastali (pripadajo istemu podtipu), zato so ljudje vsaj delno zaščiteni proti njim (1).

Veliko redkeje pride do prerazporeditve genetskega materiala, za katero so dovzetni samo virusi influence A. Ta pojav imenujemo antigenski premik in lahko privede do nastanka novega podtipa virusa s povsem novimi antigeni. Do tega pride zaradi prerazporeditve odsekov genoma med virusi influence ptic in virusi influence ljudi, kar se najpogosteje zgodi v prašičih, ki so hkrati okuženi z obema virusoma. Če ima nov virus povsem nove antigenske lastnosti, ljudje proti njemu niso odporni, kar mu omogoča uspešno širjenje in je podlaga za nastop pandemije. Te se pojavijo približno trikrat v vsakem stoletju (1).

Virusi se prenašajo kapljično. Do okužbe pride lahko z vdihavanjem teh kapljic ali z neposrednim stikom z virusom na okuženih rokah in predmetih. Širjenje virusov se prične že dan pred pojavom bolezenskih znakov in simptomov ter traja približno sedem dni (3).

## KLINIČNA SLIKA

Razpon bolezenskih znakov in resnosti boleznih je zelo velik. Gripa se lahko pojavi kot blago vnetje zgornjih dihal, lahko pa kot izredno huda prizadetost z odpovedjo dihanja in drugih organov. Večina bolnikov ima samoomejujočo vročinsko bolezen s prizadetostjo dihal. Inkubacijska doba traja 1–4 dni, nato pa se bolezen praviloma začne nenadno. Prvi simptom je po navadi občutek mrazenja, kmalu zatem pa pojav povišane telesne temperature, ki je praviloma višja od 38 °C. Prisoten je še glavobol, bolečine v žrelu in mišicah (še posebej v mišicah nog in ledvenem predelu), bolečina v sklepih, huda utrujenost, čez nekaj dni pa se pridruži še suh kašelj. Nekateri bolnike lahko pečejo oči, svetloba pa

jih moti. Pri otrocih so mogoče prebavne težave, zlasti driska ali bolečine v trebuhu, starostniki pa imajo pogosto samo povišano telesno temperaturo in motnje zavesti. Če gre za potek bolezni brez zapletov, trajajo bolečine in povišana telesna temperatura manj kot en teden, slabo počutje z utrujenostjo in suhim kašljem pa še dodaten teden (1, 7, 8).

## ZAPLETI BOLEZNI

Hujši poteki okužbe z virusi influence predstavljajo enega vodilnih vzrokov obolenosti in smrtnosti na svetu (7).

Zapleti se pojavljajo predvsem pri bolj ogroženih skupinah, kot so starostniki, otroci, mlajši od dveh let, bolniki z okrnjeno imunostjo, nosečnice in prekomerno hranjeni posamezniki (2).

Najpogostejši zapleti so na dihalih. Lahko pride do primarne virusne pljučnice, veliko pogostejša pa je sekundarna bakterijska pljučnica. Primarna virusna pljučnica je sicer redek, a hud zaplet gripe. Na začetku poteka podobno kot običajna gripa, po enem tednu pa ne pride do izboljšanja, temveč povišana telesna temperatura vztraja, kašelj postaja vse hujši, pojavita se dispneja in cianoza. Izmečka je malo, pogosto je krvavkast. Ta vrsta pljučnice je še posebej pogosta pri osebah z boleznimi srca, še posebej pri zožitvi mitralne zaklopke. Pri sekundarni bakterijski pljučnici se navadno stanje vmes nekoliko izboljša, nato pa se po nekaj dneh ponovno pojavi povišana telesna temperatura, ki jo spremlja produktivni kašelj z gnojnim izmečkom. Najpogostejši povzročitelji bakterijske pljučnice so *S. pneumoniae*, *S. aureus* in *H. influenzae*, ki pogosto naseljujejo nosni del žrela, patogeni pa postanejo zaradi predhodne virusne poškodbe dihal.

Poleg pljučnic zaplete na dihalih predstavljajo še poslabšanje kronične obstruktivne pljučne bolezni, ponovni zagon kroničnega bronhitisa in astme, sinuzitis, pri otrocih pa bronhiolitis in krup (7).

Zunajpljučni zapleti so posledica posebnih lastnosti virusa (virulentni podtipi) in gostiteljevega predhodnega stanja (pripadajoče bolezni, genetska dovzetnost). Največkrat so povezani z akutno fazo bolezni in so pogosto poglavitna težava obolenja ter razlog prihoda v bolnišnico (7).

Predvsem starostniki in bolniki z osnovnimi boleznimi imajo v poteku bolezni pogosto sepso, ki jo lahko povzročajo določeni sevi virusov influence, pogosteje pa je posledica sekundarne bakterijske okužbe, ki jo največkrat povzroča *S. pneumoniae* (1, 8).

Čeprav so bolečine v mišicah pri gripi skoraj vedno prisotne, so miozitis, rabdomioliza in mioglobinurija redki zapleti gripe (1).

Raziskave so pokazale, da je nekaj dni po okužbah dihal povečana pojavnost tako ishemičnih srčnih pojavov kot ishemičnih zapletov na možganskem žilju in kapi (7).

Okužba z virusom influence lahko vodi v številne nevrološke zaplete, ki vključujejo tako številne posamezne bolezni, ki jih skupaj pojmujejo kot z gripo povezani encefalitis in encefalopatije, ali kot ločene sindrome, kot so Guillain-Barre sindrom, Reyev sindrom in parkinsonizmi. Nevrološki zapleti so še posebej pogosti med otroki (7).

Okužba lahko prizadene tudi delovanje ledvic, ki se lahko kaže kot akutna ledvična odpoved, akutni glomerulonefritis ali akutni tubulointestinalni nefritis (7).

Možni so različni hematološki zapleti, ki vključujejo trombembolijo, trombotično trombocitopenično purpuro, hemolitično-uremični sindrom in hemofagocitni sindrom. To kaže na dejstvo, da lahko okužba z virusom influence poslabša pogoje, ki vodijo v aktivacijo ali ponovno aktivacijo avtoimunskih bolezni (7).

## **MIOKARDITIS V SKLOPU OKUŽBE Z VIRUSOM INFLUENCE A**

Miokarditis je vnetno obolenje srčne mišice, ki ga povzročajo številne bakterije in virusi. Med virusi predstavljajo najpogostejše

povzročitelje virusi coxsackie, adenovirusi, parvovirusi, virusi hepatitisa C, virus HIV, medtem ko so drugi, vključno z virusom influence, redkejši povzročitelji miokarditisa, še posebej njegove fulminantne oblike (9). Kljub temu pa v zadnjih letih opažajo povečanje števila primerov miokarditisa, povzročena z virusom influence (10).

Čeprav so srčni zapleti pogost pojav v sklopu gripe in so okvare srčne mišice prisotne v 0–11 % primerov, je miokarditis redek, a življenje ogrožajoč zaplet gripe. Dejanska pojavnost miokarditisa v sklopu gripe je sicer nepoznana zaradi raznolike klinične slike, ki sega od asimptomatskih EKG-sprememb do fulminantnih srčnih odpovedi z usodnimi aritmijami. Prav tako predstavlja težavo pomanjkanje literature in poročil o primerih miokarditisa, ki je posledica okužbe z virusom influence (6, 7, 11, 12). V zadnjih desetih letih je bilo tako npr. na PubMedu objavljenih samo 34 poročil o primerih miokarditisa zaradi gripe.

Bolezni srca in žilja so z gripo že dolgo povezovali, saj je pri obeh obolenjih največ primerov ravno v zimskem času. Epidemiološke raziskave so tudi pokazale povečano število smrti zaradi bolezni srca in žilja v času gripe, kar je pokazalo na to, da srčno-žilni zapleti, ki so lahko posledica neposrednega delovanja virusa ali poslabšanja že obstoječe bolezni in vključujejo akutno ishemično srčno bolezen, srčno odpoved, manj pogosteje pa miokarditis, pomembno prispevajo k obolevnosti in smrtnosti ob okužbi z virusom influence (7).

Virus prodre do celic srčne mišice skozi dihala ali pa skozi prebavni trakt. Okužba povzroči okvaro celic srčne mišice, ki je v začetku posledica neposrednega učinka virusa, nato pa predvsem delovanja citokinov, ki imajo vodilno vlogo v patologiji miokarditisa. V celici se virusni genom prepíše v strukturne beljakovine in virusne proteaze, ki razgrajujejo citoskelet, hkrati pa povzročajo razpad distrofin-glikoproteinskega kompleksa, ki ga srčna mišica nujno potrebuje

za normalno delovanje. Med citokini ima v patologiji pomembno vlogo TNF- $\alpha$ . Raziskave so pokazale, da je bila okužba z virusom influence A povezana s povečanim izražanjem TNF- $\alpha$  in njegovih receptorjev v srčni mišici. TNF- $\alpha$  povzroči zmanjšanje srčne krčljivosti preko številnih procesov, ki vključuje z dušikovim oksidom (NO) povezane mehanizme in preko neposrednega delovanja na znotrajcelično uravnavanje kalcija. Makrofagi in dendritične celice tvorijo odziv, ki sproži izločanje navzkrižno reaktivnih lastno proizvedenih antigenov, ki vodijo v z limfociti T posredovan avtoimunski odziv, ki nadaljnje poškoduje celice srčne mišice. Omenjen avtoimunski odziv je genetsko pogojen, saj prisotnost specifičnih protiteles proti srčni mišici vodi v nastanek dilatativne kardiomiopatije. Razni zapleti, kot so aritmije, srčno popuščenje, sinusne tahikardije in embolije, se lahko pojavijo šele več dni oz. tednov po sami virusni okužbi. V primeru, da jih ne zdravimo pravilno, lahko pripeljejo do dilatativne kardiomiopatije, prekatne tahikardije ali nenadne srčne smrti (2, 10).

Miokarditis se kaže z zelo raznoliko klinično sliko. Lažje oblike potekajo klinično nemo. Pri fulminantnem miokarditisu se po navadi nespecifičnim simptomom, ki spominjajo na gripo, nenadno pridružijo simptomi in znaki, povezani s srčno boleznijo (prsna bolečina, dispneja, sinkopa, znižan krvni tlak itd.), ki hitro vodijo v hemodinamsko poslabšanje, ki se lahko nadaljuje s hudim srčnim popuščenjem, kardiogenim šokom in usodnimi aritmijami. Pogosto je skupaj s srčno mišico prizadet tudi osrčnik (1, 12).

V nadaljevanju predstavljamo primer prej zdrave bolnice s fulminantnim miokarditisom in večorgansko odpovedjo v sklopu okužbe z virusom influence A.

## **PRIKAZ PRIMERA**

46-letna gospa je bila na Enoto za intenzivno terapijo (EIT) sprejeta z Infekcijske kli-

nike zaradi kardiogenega šoka in suma na akutni infarkt srčne mišice.

Nekaj dni pred sprejemom na Infekcijsko kliniko je zbolela s povišano telesno temperaturo 38 °C in bolečinami v vratu ter križu. Prehladni znaki in kašelj niso bili prisotni. Četrty dan bolezni sta jo sin in mož našla v kuhinji, kjer je stala z otrdelimi mišicami, ni se odzivala, v ušesih ji je šumelo. Zaradi omenjenih težav jo je sprva pregledal osebni zdravnik. V anamnezi je ugotovil, da gre za prej popolnoma zdravo gospo, ki ni bila cepljena proti gripi. V zdravstvenem domu so parenteralno nadomeščali tekočine, preverili C-reaktivno beljakovino (angl. *C-reactive protein*, CRP), ki je bila normalna, prav tako so bili v mejah normale izmerjeni levkociti, hemoglobin, trombociti in kreatinin. Zaradi normalnih laboratorijskih izvidov so gospo želeli odpustiti domov, vendar je ob odhodu ponovno kolabirala, ob tem je bil krvni tlak 50/30 mmHg. Z rešilnim vozilom so jo prepeljali na Infekcijsko kliniko. Tu so ponovili laboratorijske preiskave, ki so tokrat pokazale povišan kreatinin (112  $\mu$ mol/l) in znižano ocenjeno glomerulno filtracijo (51 ml/min). Bris na viruse dihal je bil influenza A-pozitiven. Preko noči je bila sprejeta na oddelek, zjutraj pa je bila slabše odzivna, z znižanim krvnim tlakom, EKG-izvid je pokazal dvige v odvodih aVF, II, III, V3-V6. Troponin je bil povišan in je znašal 4,82  $\mu$ g/l (normalne vrednosti do 0,1  $\mu$ g/l), zaradi česar so jo premestili na EIT.

Ob sprejemu na EIT je bila bolnica v kardiogenem šoku. Sicer je bila pri zavesti in orientirana, vendar je bila slabše odzivna. Kljub temu da je že na Infekcijski kliniki prejela dodaten kisik, je bila nasičenost krvi na pulznem oksimetru 92 %, krvni tlak 78/46 mmHg, srčni utrip 120/min. Telesna temperatura je bila znižana in je znašala 34 °C. Narejen je bil UZ srca, ki je pokazal izrazito slabo delovanje obeh prekatov, ki sta bila močno edematozna. Prisotna je bila difuzna zmanjšana krčljivost



in perikardialni izliv. Zaradi nizke nasičenosti krvi s kisikom je bila gospa takoj intubirana in mehansko predihavana. Uvedena je bila podpora z noradrenalinom in dobutaminom. Koronografija je pokazala normalno koronarno žilje. Zaradi neobvladljivega kardiogenega šoka je bila vstavljena intra-aortna balonska črpalka (IABČ). Kljub tem ukrepom se kardiogeni šok ni popravljal, laktat je narasel preko 10 mmol/l (normalno 0,6–2,4 mmol/l). Prisotni sta bili jetrna okvara in akutna ledvična odpoved. Zaradi poglobljanja kardiogenega šoka so pri bolnici začeli z zunajtelesno mehansko podporo krvnemu obtoku z veno-arterijsko zunajtelesno membransko oksigenacijo (angl. *veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation*, VA ECMO). V začetku je bila priključena na perkutani VA ECMO, ki pa ga je bilo zaradi odpovedovanja delovanja srca treba nadgraditi s kirurškim pristopom in dodatnimi kanilami (slika 1).

Po teh posegih se je bolnica stabilizirala, laktat se je normaliziral, vazopresorna podpora je bila znižana, jetrno delovanje pa se je popravilo. Zaradi akutne ledvične odpovedi je bila pri bolnici izvajana neprekinjena dializa z vključitvijo membrane za odstranjevanje interlevkinov in mioglobi-



**Slika 1.** RTG prsnega koša z vstavljenimi kanilami za zunajtelesno membransko oksigenacijo.

na (Cytosorb (CytoSorbents, Monmouth Junction, New Jersey, ZDA)).

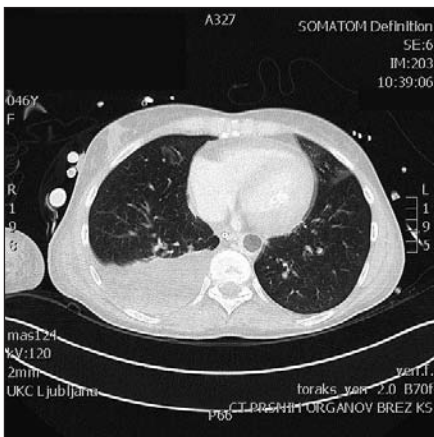
Glede na UZ, EKG in klinično sliko je bil postavljen sum na fulminantni miokarditis. Troponin I je maksimalno porastel do 165 µg/l, vrednosti nad 60 µg/l so vztrajale več dni. Vztrajale so tudi spremembe v ponovnem EKG, ki je pokazal visoke dvige ST-spojnice v odvodih II, III, aVF in V3–V6. Ultrazvočno se delovanje srca ni popravljalo. Pri obeh prekatih je bilo opaziti zmanjšano krčljivost, mere pa so bile v mejah normale. Preddvora sta se normalno krčila. Bil je prisoten manjši perikardialni izliv. Zaradi verjetno nepopravljive okvare srčne mišice je bila bolnica predstavljena srčno-žilnemu kirurgu za vstavev trajne mehanske podpore krvnemu obtoku. Ker je pri bolnici prišlo do odpovedi obeh prekatov, je v poštev prišla le vstavev črpalke, ki popolnoma nadomesti funkcijo obeh prekatov (angl. *total artificial heart*, TAH) in predstavlja premostitev do presaditve srca.

Bolnica je pet dni prejemale oseltamivir in vankomicin. Od tretjega dne bolnišnične obravnave dalje je zaradi prehodnega porasta vnetnih kazalcev in suma na bolnišnično pljučnico prejemale tudi piperacilin/tazobaktam v neprekinjeni infuziji. Na RTG prsnega koša je bilo vidno zasenčenje v desnem srednjem pljučnem režnju. Opravljen je bil CT prsnega koša, ki je pokazal pleuralni izliv desno navzad, debeline 5 cm (slika 2). Vidne so bile tudi atelektaze srednjega pljučnega režnja, v sprednjih delih levega zgornjega in desnega spodnjega pljučnega režnja so bila vidna področja zgozstitev tipa mlečnega stekla.

Opravljen CT glave je pokazal dve hipodenzni, verjetno sveži ishemični leziji. Za oceno nevrološkega statusa je bila ukinjena sedacija, bolnica se je zbujala, vendar smiselnega kontakta z njo ni bilo. Deseti dan zdravljenja na EIT je bila bolnica premeščena v operacijsko dvorano za vstavev TAH (slika 3).

Med operacijo je potrebovala visoke odmerke vazokonstriktorjev, prejela je tudi masivno transfuzijo krvi zaradi medoperativne krvavitve. Tudi po operaciji je bila bolnica še vedno priključena na neprekinjeno vensko-vensko hemofiltracijo (angl. *continuous veno-venous hemofiltration*, CVVH), prav tako je bilo nadaljevano empirično antibiotično zdravljenje. Bolnica se je v naslednjih dneh hemodinamsko stabilizirala, težav z delovanjem TAH ni bilo. Teden po operaciji je bilo stanje dovolj stabilno, da je bil lahko odstranjen ECMO in opravljen kontrolni CT glave. Preiskava je pokazala že od prej znani ishemični leziji desno frontalno subkortikalno, poleg tega pa novo drobno ishemično lezijo desno frontalno brez krvavitve. Teden za tem je bila ukinjena antibiotična terapija, čeprav so vnetni parametri občasno porasli. Medtem so bolnico pričeli prebujati. Smiselno se je zbudila, vendar je imela slabo mišično moč, tudi dihalnih mišic, vendar se je ta v enem tednu dovolj izboljšala, da so lahko odstranili tubus iz dihalnih poti. Prav tako je bil takrat odstranjen CVVH, zdravljenje ledvične okvare pa se je nadaljevalo s prekinjenimi dializami. Nekaj dni pozneje so vnetni parametri ponovno porasli, prav tako je bla-

go porasel beta-D-glukan, predhodno pa so bili dokazani izolati *C. albicans* iz dihal in urina, zato je bil uveden antimikotik (anidulafungin) za predvideno obdobje desetih dni. Po njegovi uvedbi je telesna temperatura padla, prav tako tudi vnetni parametri. Opažena je bila izguba sposobnosti govora, zato je bolnico pregledala nevrologinja, ki je opazila tudi slabo moč v vseh okončinah z največjo oslabelostjo desne zgornje okončine, izzvan je bil tudi patelarni klonus desne spodnje okončine. Klinično je posumila na novo ishemično lezijo v povirju leve sprednje možganske arterije, vendar CT ni pokazal novih ishemičnih kapi. Mesec pozneje je bolnica začela tožiti zaradi hudega glavobola, po zajtrku je večkrat bruhala, krvni tlak je porastel na 170/110 mmHg, ušlo ji je blato, postala je somnolentna, pozneje pa neodzivna. Zato so jo analgosedirali, intubirali in začeli z mehanskim predihavanjem. Opravljen je bil urgentni CT glave, ki je pokazal masivno krvavitev desno frontalno (slika 4). Hematom je prodril v desni stranski prekat, ki je bil izpolnjen s krvjo, frontalni rog desnega stranskega prekata je bil močno utesnjen s pomikom centralnih struktur pod falks v levo (herniacija je znašala približno 9 mm). Tret-



**Slika 2.** CT prsnih organov brez kontrasta z vidnim pleuralnim izlivom desno.



**Slika 3.** RTG prsnega koša z vidno vstavljeno črpalko, ki popolnoma nadomesti funkcijo obeh prekatov (angl. *total artificial heart*, TAH).



ji in četrti prekat sta bila prav tako izpolnjena s krvjo, supratentorialni precati pa so bili začetno razširjeni, kar kaže na začetni hidrocefalus. Vidna je bila še ena parenhimsko krvavitev v zgornjem delu leve hemisfere malih možganov.

Bolnica je bila takoj operirana, napravljena je bila trepanacija, odstranitev hematoma in vstavev elektrode za merjenje znotrajlobanjskega tlaka in zunanja ventrikularna drenaža (ZVD). Na EIT je bila nadaljevana analgosedacija in kontrolirano mehansko predihavanje, za vzdrževanje primerne prekrvavitvenega tlaka pa so bili potrebni nizki odmerki noradrenalina. Po operativnem posegu je bil opravljen CT glave, ki je pokazal, da je bil večji del hematoma desno frontalno odstranjen, medtem ko je hematoma v levi hemisferi malih možganov ostajal nespremenjen. Zaradi skokov znotrajlobanjskega tlaka je bila vstavljena nova ZVD. Ob primernem iztekanju možgansko-hrbtenjačne tekočine so se vrednosti znotrajlobanjskega tlaka normalizirale. Glede na CT-izvid in zaradi visokega tveganja za tromboembolične dogodke ob vstavljenem TAH je bil v zdravljenje uveden standardni heparin v neprekinjeni infuziji. Dva tedna pozneje je prišlo do nenadnega porasta

znotrajlobanjskega tlaka, desna zenica je postala široka, razokrožena in nereaktivna. Kontrolni CT glave je potrdil svežo krvavitev v prehodni hematoma desno frontalno (slika 5).

Svetovan je bil takojšnji operativni poseg. Opravljena je bila odstranitev hematoma in ponovna vstavev elektrode za merjenje znotrajlobanjskega tlaka. Po posegu je bila vrednost tlaka 42 mmHg, zenici pa nereaktivni. Zaradi visokega tveganja za novo možgansko krvavitev je bilo zdravljenje s heparinom predhodno ukinjeno. Na konziliju specialistov intenzivne medicine in specialistov nevrokirurgije je bil sprejet sklep, da je kirurško zdravljenje izčrpano. Povišane vrednosti znotrajlobanjskega tlaka so bile tako zdravljene z zdravili, uveden je bil deksametazon. Čez nekaj dni so pričeli s prebujanjem bolnice, ki je bila v stanju minimalne zavesti. Pojavili so se tudi klinični in laboratorijski znaki pljučnice, zato je bil po posvetu z infektologom empirično uveden ertapenem, vankomicin in flukonazol. Ves čas je bil beta-D-glukan pozitiven. Iz aspirata sapnika sta bila izolirana *E. cloacae* in *C. krusei*, v urinkulturah pa je porastel *E. faecium*. Po prejemu antibiograma je bil flukonazol zamenjan za vorikonazol, po



**Slika 4.** CT glave brez kontrasta z vidno krvavitvijo desno frontalno.



**Slika 5.** CT glave brez kontrasta z vidnim znotrajmožganskim hematoma desno frontalno.

končanem prejemanju le-tega pa je bolnica zaradi vztrajno pozitivnih aspiratov *E. cloacae* še dodaten teden prejela piperacilin/tazobaktam. Zaradi potrebe po trajni zagotovitvi dihalne poti je bila dva tedna po opravljeni odstranitvi hematoma napravljena traheotomija. Po nasvetu infektologa je bilo ob posegu empirično uvedeno zdravljenje s cefepimom in vankomicinom. Iz pozitivnih hemokultur je bila izolirana *C. albicans*, zato so bili zamenjani vsi žilni katetri in uvedeno agresivno antimikotično zdravljenje z mikafunginom. Kljub zdravljenju z vankomicinom je v hemokulturah porastel *S. epidermidis*, zato je bil vankomicin zamenjan za daptomicin. Kljub izboljšanju kliničnih znakov pljučnice in prehoda preko podpornih oblik predihavanja na spontano dihanje brez dodanega kisika so vztrajali pozitivni izvidi beta-D-glukana in *C. albicans*, iz česar je bilo zaključeno, da gre za vztrajajočo glivično sepsa. Zdravljenje z mikafunginom in daptomicinom je bilo zato odmerjeno do dneva odpusta. Diferencialno diagnostično je bilo možno, da gre za z glivami okužen TAH, vendar je ta deloval brez težav. V krivuljah ni bilo zaznanih znakov obstrukcije. Po predhodnem dogovoru je bila bolnica iz EIT premeščena na oddelek za kardiologijo za nadaljevanje zdravljenja. Nadaljevano je bilo antimikotično zdravljenje. Zaradi vztrajajočega infiltrata v desnem pljučnem krilu je bila opravljena bronhoskopija, ki je izključila atelektazo, odvzeti aspirati pa so bili skladni s predhodnimi mikrobiološkimi preiskavami. Ledvično delovanje je bilo med bolnišničnim zdravljenjem dobro, heparina pa zaradi številnih predhodnih krvavitev v osrednje živčevje niso uvajali. Dva tedna po sprejemu na kardiološki oddelek je prišlo do popolne odpovedi levega prekata TAH in pljučnega edema, najverjetneje ob trombozi levega prekata. Bolnica je prejela visoke odmerke heparina, bolus koloidov in morfij. Prilagojeni so bili parametri TAH, vendar se kljub temu črpalna funkcija levega

prekata TAH ni povrnila. Še isti dan je bolnica umrla.

## RAZPRAVA

Fulminantni miokarditis je redek, a smrtno nevaren zaplet okužbe z virusom influence. Japonska nacionalna raziskava je pokazala, da je bila smrtnost zaradi fulminantnega miokarditisa v sklopu influence kar 39 % kljub intenzivnemu zdravljenju, medtem ko je bila smrtnost pri bolnikih, ki se na začetno hemodinamsko zdravljenje niso odzivali in niso prejeli mehanske podpore krvnemu obtoku, kar 83 %. Uporaba zunajtelesne membranske oksigenacije naj bi pri teh bolnikih znižala smrtnost na manj kot 20 % (6). Primer bolnice, ki je predstavljen v prispevku, je prav zato še toliko bolj zanimiv, saj gre za prej popolnoma zdravo gospo, ki ni sodila v nobeno izmed ogroženih skupin (starostniki, otroci, mlajši od dveh let, bolniki z okrnjeno imunostjo, nosečnice in prekomerno hranjeni posamezniki), pri katerih se take zaplete pričakuje.

Fulminantni miokarditis, katerega povzročitelji so virusi, se kaže z nespecifičnimi simptomi virusne okužbe, kot so kašelj, povišana telesna temperatura, zamašen nos, slabost, ki se jim nenadno pridružijo dispneja, sinkopa, aritmija in srčno popuščanje, ki vodi v kardiogeni šok. Srčno popuščanje je najpogostejši zaplet fulminantnega miokarditisa zaradi okužbe z virusom influence (7). Do njega pride zaradi debeljenja stene levega prekata, ki se mu pridruži še intersticijski edem srčne mišice, posledica česar je zožitev votline levega prekata, kar vpliva na zmanjšan iztis skupaj s sistolično disfunkcijo (13). Bolniki s fulminantnim miokarditisom imajo v primerjavi z akutnim nefulminantnim višjo srčno frekvenco, nižji krvni tlak in višje serumske pokazatelje nekroze srčne mišice, kar kaže na hujši in nevarnejši potek te oblike miokarditisa (12).

Prepoznava fulminantnega miokarditisa mora biti hitra, UZ pa predstavlja uporabno metodo za zgodnje odkrivanje odpove-

dovanja srčne mišice in nadaljnje usmeritve za potek zdravljenja. Prav tako lahko z njim izključimo preostale vzroke srčnega popuščanja, kot so prirojena srčna bolezen, bolezninski zaklopk ali osrčnika. Na UZ so značilno vidni difuzna zmanjšana krčljivost prekatov, raznolika stopnja razširitve srčne mišice, preddvorno-prekatna regurgitacija, pogosto je prisoten tudi perikardialni izliv (12). Perikardialni izlivi raznolikih velikosti so prav tako pogost zaplet z gripo povezanega miokarditisa, raziskave pa so pokazale, da so pogostejše prisotni pri bolnikih s fulminantnim kot pri tistih z nefulminantnim potekom (7, 13). Difuzna zmanjšana krčljivost prekatov in perikardialni izliv sta bila prisotna tudi pri izvidu naše bolnice.

Pri bolnici je bila opravljena tudi koroangiografija, s katero je bila izključena zožitev koronarne arterije kot vzrok srčnih težav (13). Čeprav se histološka preiskava šteje kot zlati standard v diagnozi, predstavlja zaradi svoje invazivnosti določeno tveganje, zato se je ne izvaja pri hemodinamsko zelo nestabilnih bolnikih, kakršna je bila tudi bolnica v našem primeru. Poleg tega je bila pri bolnici diagnoza gripe in miokarditisa jasna.

Povišan troponin I v krvi je občutljiv pokazatelj okvare srca (7, 14). Ker je virus influence znan povzročitelj virusne okvare srčne mišice, je treba pri bolnikih z gripo spremljati tudi vrednosti troponina, ki se štejejo za povišane ob vrednosti  $> 0,3$  ng/ml. Zgodnje odkrivanje povišanega troponina je tako pomembno za prepoznavo bolnikov, ki imajo večje tveganje za slabši izid zdravljenja zaradi možnosti nastanka srčnih zapletov. Za okvaro srčne mišice so ogroženi tudi bolniki, ki predhodno niso imeli nikakršnih težav z delovanjem srca (15). Nedavna raziskava je pokazala, da naj bi bilo v prvem tednu po laboratorijski diagnozi gripe tveganje za pojav akutnega srčnega infarkta kar šestkrat višje kot sicer (16).

Na RTG prsnega koša so po navadi vidni znaki pljučnega edema in povečana

srčna senca, kar je bilo vidno tudi pri naši bolnici (1). Iz tega razloga so bili opravljene še CT prsnega koša, trebuha in glave. CT prsnega koša je lahko pokazatelj pljučnega zastoja, ki je znak slabšega delovanja srca. Prav tako je CT uporaben za odkrivanje pnevmonitisa, ki je poznan zaplet okužbe z virusom influence (17).

Čeprav je oseltamivir (zaviralec nevraminidaze) za zdravljenje gripe najučinkovitejši, če pričnemo z zdravljenjem v 48 h po pojavu simptomov, ga damo bolnikom, pri katerih je potek bolezni tako težak, da je potrebna bolnišnična obravnava, tudi pozneje. Bolnica v opisanem primeru je tako prejela prvi odmerek zdravila šele četrty dan klinično izražene bolezni, kar je izven optimalnega okvira. Oseltamivir zmanjšuje predvsem verjetnost nastanka zapletov. V raznih raziskavah so namreč dokazali, da je oseltamivir skrajšal čas do prvega izboljšanja simptomov za skoraj 21 % v primerjavi z bolniki, ki so prejeli placebo. Prav tako so opazili, da je bilo pri bolnikih, ki so bili zdravljeni z oseltamivrom, za kar 3,8 % manj zapletov na spodnjih dihalih, ki bi zahtevali antibiotično zdravljenje, in za 1 % manj sprejemov v bolnišnico zaradi kakršnih koli vzrokov v poteku zdravljenja gripe (18). Bolniki so se prej pozdravili in se bili hitreje sposobni vrniti k vsakodnevnim opravilom kot tisti s placebom. Trajanje slabosti se je skrajšalo za 29 %, bolečine v mišicah pa za 26 % (19). Neželene učinke zdravila so, da lahko povzročijo slabost in bruhanje. Zdravljenje traja po navadi pet dni (1).

Najpomembnejši ukrep pri zdravljenju najhujših oblik fulminantnega miokarditisa pa je zagotovo mehanska podpora krvnemu obtoku, ki se uporablja za zagotavljanje zadostne prekrvavitve organov in za zmanjševanje potrebe po inotropnem zdravljenju (6).

Kot prvi korak je bila tako bolnici zaradi na UZ vidnega slabega delovanja prekatov vstavljena IABČ, ki nudi hemodinamsko podporo z zmanjševanjem sistolične

obremenitve (angl. *afterload*) levega prekata, kar zmanjšuje napetost na steno prekatov in zahteve srčne mišice po kisiku. Kljub temu IABČ ustvarja le majhno povečanje srčnega iztisa (okrog 0,3–0,5 l), ki pogosto ni dovolj učinkovito za bolnike s hudim kardiogenim šokom (13).

V primeru, da ne pride do opaznega izboljšanja, je naslednji korak vstavitvev ECMO. To je oblika začasne podpore, pri kateri zunanja črpalka črpa vensko kri iz bolnika in jo preko oksigenatorja, kjer pride do prehoda kisika v kri in odstranjevanja ogljikovega dioksida, vrača v krvni obtok (20). Glede na smernice Evropskega združenja za kardiologijo je ECMO metoda, ki omogoča premostitev do ozdravitve obolelega organa (angl. *bridge to recovery*) (srca ali pljuč) ali do presaditve (angl. *bridge to transplantation*) oz. pri odpovedi srca do vstavitve črpalke za trajno podporo krvnemu obtoku (angl. *left ventricular assist device*, LVAD) ali TAH (13).

Pri bolnikih, pri katerih se kljub zdravljenju z ECMO ne pokaže bistveno izboljšanje delovanja srčne mišice, je naslednji ukrep ali vstavitvev črpalke za trajno podporo krvnemu obtoku ali presaditev srca.

Bolnica je imela tudi jetrno okvaro, ki je pokazatelj resnosti bolezni. V eni izmed raziskav so odkrili odsotnost virusnega antigena v jetrnih celicah in soodvisnost med povišanimi pokazatelji jetrne okvare in sistemskimi pokazatelji vnetja, kar je nakazovalo, da je vzrok jetrni okvari najverjetneje sistemsko vnetje. Prisotnost jetrne okvare je bila pogosto prisotna v opisih primerov težje potekajočih okužb z virusom influence, zato je svetovano tudi spremljanje jetrnih encimov. Pri bolnici je bila jetrna okvara posledica tako virusne okužbe kot nezadostne prekrvavitve ob kardiogenem šoku (7).

Pri bolnici je dolgo časa vztrajala akutna ledvična odpoved. Raziskave so pokazale, da je ledvična okvara prisotna v 18–66 % bolnikov, ki so bili zaradi gripe obravnavani na enotah intenzivne terapije. Dejavnosti

ki tveganja za razvoj akutne ledvične odpovedi v sklopu gripe so debelost, že prej prisotna kronična ledvična bolezen, visoka starost in hudo potekajoča okužba. Poleg hude okužbe so mehanizmi poškodbe ledvic še rhabdmioliza, zmanjšana prekrvavitvev ledvic zaradi zmanjšane volumna krvi ali akutna tubularna nekroza zaradi sepse. Pri bolnici je bil najpomembnejši dejavnik ledvične odpovedi kardiogeni šok in posledična nezadostna prekrvavitvev vseh organov (7).

Bolnici je bil vstavljen TAH, ki je se je izkazal za učinkovito metodo zdravljenja pri bolnikih s končno stopnjo obojestranskega prekatnega srčnega popuščanja, ki čakajo na presaditev srca. TAH nadomesti bolnikov prekat in zaklopke in po navadi predstavlja most do presaditve. Najpogostejši zaplet vsaditve TAH so okužbe, do katerih pride v kar 53 do 62 % in lahko vključujejo mediastinum, osrčnik in dihalni trakt. Pogosti zapleti vključujejo še krvavitve, tromboze, jetrne in ledvične odpovedi, nevrološke zaplete in slabo delovanje samega TAH. Okužbe in hemoragični zapleti so bili navedeni kot poglavitni vzrok smrtnosti po samem posegu. Pri naši bolnici je poleg zelo verjetne vztrajajoče glivne okužbe prišlo tudi do nevroloških zapletov. Glede na določene raziskave naj bi v približno 10 % primerov prišlo do možganske kapi. Pri bolnikih lahko pride tudi do subarahnoidne krvavitve, ki je najpogosteje posledica antikoagulantnega zdravljenja. CT ima poglavitno vlogo pri pooperativnem spremljanju bolnikov za zgodnjo prepoznavo zapletov in spremljanje učinkovitosti delovanja TAH (21).

Kljub vsem opravljenim ukrepom se je opisan primer končal s smrtnim izidom.

S člankom smo želeli opozoriti na izjemen pomen cepljenja tako pri sami preventivi pred okužbo kot pri preprečevanju zapletov, če do okužbe že pride.

V Sloveniji uporabljamo inaktivirana cepiva proti gripi. Praviloma so sestavljena iz dveh sevov virusa influence A in enega

seva virusa influence B (trivalentna cepiva), za katere se predvideva, da bodo krožili v prihajajoči sezoni. Ker je za pripravo in razpošiljanje cepiva potrebnih vsaj šest mesecev, virusi influence pa se zelo hitro genetsko spreminjajo, obstaja možnost, da cepivo ne ustreza antigenski sestavi virusov, ki bodo krožili v sezoni. Zaradi dobrega epidemiološkega spremljanja je ta verjetnost zelo majhna. Ker je zaščita po cepljenju kratkotrajna in ker se virus spreminja, je cepljenje potrebno vsako leto. Medtem ko so mladi odrasli zelo dobro zaščiteni proti gripi, je zaščita nekoliko slabša pri ogroženih skupinah, vendar cepljenje pri teh učinkovito manjša verjetnost za pojav zapletov. Cepljenje tako zmanjša verjetnost nastanka pljučnice za 60 %, verjetnost smrtnega izida pa za kar 75 % (1, 3).

Zaskrbljujoč je podatek, da je v Sloveniji ena najnižjih precepljenosti proti gripi v Evropi. V lanski sezoni je bilo namreč cepljenih samo 4,1 % prebivalcev Slovenije, medtem ko je evropsko povprečje znašalo 46 %. Nekoliko boljša je bila precepljenost v najbolj ogroženi skupini, tj. pri starejših od 65 let, in je znašala 11 %, medtem ko je npr. na Nizozemskem, Škotskem in na Severnem Irskem precepljenost v tej skupini znašala kar 75 % (22).

Gripa pa v Sloveniji vsako sezono povzroča hude zdravstvene težave. Tako je bilo v obdobju med 1. 1. 2019 in 20. 3. 2019 na Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ) prijavljenih kar 2945 primerov gripe, pri katerih je bil virus influence dokazan. Največ prijavljenih primerov je bilo iz celjske in ljubljanske regije, najmanj iz goriške. Daleč največ obolelih je bilo starejših od 75 let (942), sledili so starostniki med 65. in 74. letom (483). Največ prijavljenih primerov okužb v tem obdobju je bilo v januarju (1332), sledil je februar (1272), nato pa marec (341). Pri tem je treba vedeti, da je številka obolelih za gripo v Sloveniji v tem obdobju veliko višja. Veliko ljudi, ki so bili okuženi z gripo, ni nikoli obiskalo osebne-

ga zdravnika oz. iskalo zdravniške pomoči, velikemu delu teh, ki so do zdravnika sicer prišli, pa ni bil opravljen test za dokazovanje virusa influence. Na NIJZ se namreč prijavi samo potrjene primere gripe, kar pomeni, da mora posameznik izpolnjevati tako klinična kot epidemiološka merila, okužba pa mora biti dokazana tudi z laboratorijskimi testi (23).

Poleg tega vsi zdravniki ne prijavljajo primerov gripe, tudi če je le-ta potrjena glede na zgoraj navedena merila. Zaradi vsega tega lahko sklepamo, da predstavlja navedeno število prijavljenih primerov manj kot polovico vseh zbolelih in je dejansko število veliko večje.

Na Kliniko za infekcije bolezni in vročinska stanja (KIIBVS) v Ljubljani je bilo med 1. 1. 2019 in 20. 3. 2019 v bolnišnični obravnavi 329 primerov obolelih za gripo, od tega je bila pri 207 primerih gripa glavni razlog sprejema. Izmed teh je intenzivno terapijo v respiratornem centru KIIBVS prejelo 27 bolnikov. Dodatno je bilo v istem obdobju ambulantno zdravljenih še 234 primerov, katerih vzrok prihoda je bila gripa.

V navedenem obdobju je bilo na Kliničnem oddelku za intenzivno interno medicino v Univerzitetnem kliničnem centru v Ljubljani zaradi hudih zapletov gripe zdravljenih 44 bolnikov, od tega jih je bilo sedem na VA ECMO, izmed teh sedmih so trije bolniki zaradi posledic zapletov gripe umrli.

## ZAKLJUČEK

Virus influence bi moral biti upoštevan kot pomemben povzročitelj fulminantnega miokarditisa. Fulminantni miokarditis, ki vodi v kardiogeni šok, je sicer redek, vendar življenje ogrožajoč zaplet gripe, zato je potrebna hitra prepoznavna znakov in simptomov. Ker je okvara srčne mišice zaradi virusnega miokarditisa popravljiva, je hitro ukrepanje izrednega pomena. Zdravljenje temelji predvsem na hemodinamski in dihalni podpori. VA ECMO je pogosta možnost za tiste

bolnike, pri katerih se kardiogeni šok ne popravlja kljub intenzivnemu standardnemu zdravljenju in predstavlja most pri čakanju na presaditev srca ali vstavitve črpalke za trajno podporo krvnemu obtoku. Glede na podatke, navedene v članku, lahko vidimo, da sezonska gripa v Sloveniji predstavlja hudo grožnjo predvsem starejšim.

S prikazanim primerom smo želeli opozoriti, da lahko pride do hudih zapletov gripe tudi pri prej zdravih posameznikih, ki ne sodijo v nobeno izmed posebej ogroženih skupin. Zato je potrebno še večje osveščanje o pomembnosti vsakoletnega cepljenja pro-

ti gripi, saj je lahko ta bolezen vzrok hudih zdravstvenih težav in celo smrti.

## **ZAHVALA**

Za pomoč pri zbiranju podatkov glede obolelih za gripo se najlepše zahvaljujemo osebju Kliničnega oddelka za intenzivno interno medicino Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani, gospe Mateji Klep s Klinike za infekcijske bolezni in vročinska stanja v Ljubljani in gospe Tatjani Freljih, dr. med., ter gospe Saši S. Rihtar z Nacionalnega inštituta za javno zdravje.

## LITERATURA

1. Tomažič J. Infekcijske bolezni. 1. ed. Ljubljana: Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo; 2014.
2. Lefevure C, Behillil S, Triau S, et al. Fatal myopericarditis following an influenza a (h3n2) infection. *Am J Case Rep.* 2018; 19: 540-4.
3. Srečko K. Ortomiksovirusi. In: Poljak M, Petrovec M, eds. *Medicinska virologija*. Ljubljana: Medicinski razgledi; 2015. p. 125-36.
4. Noah DL, Krug RM. Influenza virus virulence and its molecular determinants. *Adv Virus Res.* 2005; 65: 121-45.
5. Cao Y, Huang Y, Xu K, et al. Differential responses of innate immunity triggered by different subtypes of influenza a viruses in human and avian hosts. *BMC Med Genomics.* 2017; 10 Suppl 4: 70.
6. Aykac K, Ozsurekci Y, Kahyaoglu P, et al. Myocarditis associated with influenza infection in five children. *J Infect Public Health.* 2018; 11 (5): 698-701.
7. Sellers SA, Hagan RS, Hayden FG, et al. The hidden burden of influenza: A review of the extra-pulmonary complications of influenza infection. *Influenza Other Respir Viruses.* 2017; 11 (5): 372-93.
8. Florescu DF, Kalil AC. The complex link between influenza and severe sepsis. *Virulence.* 2014; 5 (1): 137-42.
9. Letouze N, Jokic M, Maragnes P, et al. [Fulminant influenza type a associated myocarditis: a fatal case in an 8 year old child]. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2006; 99 (5): 514-6.
10. Dickey T, Schweir M, Hysell M. Fatal influenza b myocarditis in a 34-year-old female. *Clin Pract Cases Emerg Med.* 2018; 2 (3): 219-22.
11. Oda T, Yasunaga H, Tsutsumi Y, et al. A child with influenza a (h1n1)-associated myocarditis rescued by extracorporeal membrane oxygenation. *J Artif Organs.* 2010; 13 (4): 232-4.
12. Lobo ML, Taguchi A, Gaspar HA, et al. Fulminant myocarditis associated with the h1n1 influenza virus: case report and literature review. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2014; 26 (3): 321-6.
13. Ciabatti M, Vignini E, Mattesini A, et al. Why can flu be so deadly? An unusual case of cardiogenic shock. *Intern Emerg Med.* 2019.
14. Pozzi M, Banfi C, Grinberg D, et al. Veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation for cardiogenic shock due to myocarditis in adult patients. *J Thorac Dis.* 2016; 8 (7): E495-502.
15. Harris JE, Shah PJ, Korimilli V, et al. Frequency of troponin elevations in patients with influenza infection during the 2017-2018 influenza season. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2019; 22: 145-7.
16. Kwong JC, Schwartz KL, Campitelli MA, et al. Acute myocardial infarction after laboratory-confirmed influenza infection. *N Engl J Med.* 2018; 378 (4): 345-53.
17. Yamasaki M, Okada T, Sumimoto Y, et al. Influenza infection presenting with pulmonary congestion: Influenza myocarditis. *Respirol Case Rep.* 2018; 6 (7): e00352.
18. Dobson J, Whitley RJ, Pocock S, et al. Oseltamivir treatment for influenza in adults: A meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet.* 2015; 385 (9979): 1729-37.
19. Singh S, Barghoorn J, Bagdonas A, et al. Clinical benefits with oseltamivir in treating influenza in adult populations: Results of a pooled and subgroup analysis. *Clin Drug Investig.* 2003; 23 (9): 561-9.
20. Nekič P. Extra corporeal oxygenation (ECMO) learning package [internet]. Liverpool Hospital; 2016 [citirano 2019 Jun 4]. Dosegljivo na: [https://www.aci.health.nsw.gov.au/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0007/306583/ECMO\\_Learning\\_package.pdf](https://www.aci.health.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0007/306583/ECMO_Learning_package.pdf)
21. Gomez CK, Hobbs SK. Total artificial heart imaging and complications: A pictorial review. *The VAD Journal* [internet]. 2016 [citirano 2019 Jun 4]; 2. Dosegljivo na: <https://uknowledge.uky.edu/vad/vol2/iss1/18/>
22. Mereckiene J. Seasonal influenza vaccination and antiviral use in EU/EEA Member States [internet]. European Centre for Disease Prevention and Control; 2018 [citirano 2019 Jun 4]. Dosegljivo na: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/seasonal-influenza-vaccination-antiviral-use-eu-eea-member-states>
23. Izvedbeni sklep o nalezljivih boleznih in z njimi povezanih posebnih zdravstvenih problemih, zajetih v epidemiološko spremljanje, ter o zadevnih opredelitvah primerov 2018. Uradni list Evropske Unije L170.





Katja Ražem<sup>1</sup>, Miha Lučovnik<sup>2</sup>, Bojana Pinter<sup>3</sup>

# Nadzor plodovega stanja med porodom

## *Intrapartum Fetal Surveillance*

### IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: nadzor ploda, fetalni distress, avskultacija v presledkih, neprekinjen elektronski nadzor ploda, kardiotokografija, pH-metrija ploda

Cilj nadzora plodovega stanja med porodom je prepoznati plodovo obporodno hipoksijo ter pravočasno preprečiti tveganja za zdravje in življenje ploda. Neprekinjeno elektronsko spremljanje srčnega utripa ploda in krčenja maternice – kardiotokografija (angl. *cardiotocography*, CTG) predstavlja pomembno metodo nadzora ploda med porodom v razvitih državah. V primeru suma na hipoksijo si lahko pomagamo z dopolnilnimi metodami, kot je pH-metrija. Obravnava patoloških CTG-sprememb poteka stopenjsko. Najprej skušamo popraviti reverzibilne vzroke. V kolikor patološke spremembe v CTG vztrajajo, je treba sprejeti odločitev o morebitnem dokončanju poroda. CTG trenutno predstavlja standard za nadzor ploda med porodom, čeprav v randomiziranih raziskavah ni bilo dokazano, da s to metodo zmanjšamo tveganje za neonatalno umrljivost ali cerebralno paralizo. Trenutno ne obstaja noben učinkovitejši način nadzora ploda med porodom. Številne klinične raziskave preučujejo nove metode, ki bi omogočale natančnejšo prepoznavo ogroženosti ploda za hipoksijo ter znižale stopnjo nepotrebnih operativnih dokončanj porodov.

### ABSTRACT

KEY WORDS: fetal surveillance, fetal distress, intermittent auscultation, continuous electronic fetal monitoring, cardiotocography, fetal scalp pH

The purpose of intrapartum fetal surveillance is to recognise intrapartum fetal hypoxia and to prevent stillbirth as well as neonatal morbidity and mortality. Continuous electronic monitoring of fetal heart rate and uterine activity cardiotocography (CTG) presents an important method for fetal monitoring in developed countries. When hypoxia is suspected in cases of ambiguous CTG, complimentary methods such as fetal scalp blood sampling can be performed. The management of pathological CTG changes is carried out in stages. Addressing reversible causes is performed first. When pathological changes persist, the need for delivery and optimal method of delivery should be assessed individually. Today, CTG represents a standard for intrapartum fetal surveillance despite the lack of evidence from randomized trials that it lowers neonatal mortality and cerebral palsy rates. Currently no other more efficient methods for intrapartum fetal surveillance exist. Numerous ongoing clinical studies are investigating new methods, which would correctly recognise fetal hypoxia and lower the incidence of unnecessary operative deliveries.

<sup>1</sup> Katja Ražem, dr. med., Klinični oddelek za perinatologijo, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Štajmerjeva ulica 4, 1000 Ljubljana; katja.razem@gmail.com

<sup>2</sup> Doc. dr. Miha Lučovnik, dr. med., Klinični oddelek za perinatologijo, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Štajmerjeva ulica 4, 1000 Ljubljana

<sup>3</sup> Izr. prof. dr. Bojana Pinter, dr. med., mag. ekon. in posl. ved, Klinični oddelek za reprodukcijo, Ginekološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Štajmerjeva ulica 3, 1000 Ljubljana

## UVOD

V nosečnosti je plod v maternici odvisen od izmenjave kisika, hranil in odpadnih snovi preko posteljice. Porod predstavlja fiziološki stres, med katerim zdrav plod s pomočjo različnih prilagoditvenih mehanizmov navadno dobro prenaša prehodne motnje oskrbe s kisikom, ki nastanejo ob popadkih. Njegova sposobnost za prestajanje stresa je odvisna od kondicije, zato lahko plod, ki je v nosečnosti sicer kompenziran, a brez dodatne rezerve, v teku poroda postane resno ogrožen za obporodne zaplete in smrt (1).

Plodovi srčni utripi (PSU) so posredni označevalec odziva vegetativnega živčnega sistema ploda na spremembe v krvnem tlaku in acidobaznem ravnotežju, ki se pojavijo med porodom. Ocena PSU je osrednjega pomena za prepoznavo ploda s hipoksijo in sprejemanje odločitev o morebitnih porodniških ukrepih za preprečevanje razvoja hipoksičnih poškodb. PSU lahko spremljamo z avskultacijo s presledki – poslušanjem prenosa zvoka plodovih srčnih utripov preko materinega trebuha s pomočjo inštrumentov oz. z neprekinjenim elektronskim nadzorom ploda – kardiokotografijo (angl. *cardiotocography*, CTG) (1).

V 60. letih prejšnjega stoletja sta bila v klinično prakso uvedena CTG in določanje acidobaznega stanja ploda s pomočjo pH-metrije, pri kateri s pomočjo vzorčenja krvi iz plodovega lasišča ocenjujemo presnovni status ploda. Ob uvedbi teh metod so pričakovali, da se bo stopnja mrtvorojenosti in neonatalnih nevroloških poškodb zaradi prepoznave razvijajoče se hipoksije med porodom pomembno znižala. Metaanaliza 13 objavljenih randomiziranih raziskav o vplivih CTG na perinatalne izide do leta 2017 je pokazala, da neprekinjeno spremljanje CTG med porodom ne zmanjša tveganja za perinatalno umrljivost (relativno tveganje (angl. *relative risk*, RR) = 0,86; 95 % interval zaupanja (IZ) = 0,59–1,23) in cerebralno paralizo (RR = 1,75; 95 % IZ = 0,84–3,65), zmanjša pa tveganje za neonatalne krče, ki so znak

hude obporodne hipoksije (RR = 0,50; 95 % IZ = 0,31–0,83). Istočasno porode, pri katerih neprekinjeno snemamo CTG, večkrat dokončamo s carskim rezom (RR = 1,63; 95 % IZ = 1,29–2,07), vakuumsko ekstrakcijo ali forcepsom (porodniškimi kleščami) (RR = 1,15; 95 % IZ = 1,01–1,33) (2). Tudi epidemiološke raziskave so pokazale, da kljub uvedbi CTG pojavnost cerebralne paralize ostaja 1–2/1000 terminskih porodov in se v zadnjih dvajsetih letih ni spremenila, ob tem pa je močno porasla incidenca carskih rezov in operativnih dokončanj vaginalnih porodov (2–5). Številne raziskave kažejo, da zgolj desetina primerov cerebralne paralize nastane zaradi dejavnikov med porodom (6, 7). Ameriško združenje porodničarjev in ginekologov (The American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG) in Ameriška akademija pediatrov (American Academy of Pediatrics, AAP) sta izdelali predlog devetih kriterijev, ki cerebralno paralizo povezuje z akutnim hipoksičnim dogodkom med porodom. Izpolnjeni morajo biti štirje ključni pogoji, ki dokazujejo pojav hude hipoksije med porodom (tabela 1) (8).

V klinični praksi trenutno nimamo idealne metode za nadzor stanja ploda med porodom. Dobra metoda bi morala razlikovati med prehodno in patološko hipoksijo, ki vodi v presnovno acidozo in poškodbo tkiv. Tako bi prepoznali resnično ogrožen plod in s pravočasnimi ukrepi preprečili dolgoročne zaplete ter se izognili nepotrebnim operativnim dokončanjem poroda (9).

V našem preglednem članku želimo predstaviti tehnike, ki se v klinični praksi trenutno uporabljajo za nadzor stanja ploda med porodom, opisati njihove prednosti in opozoriti na morebitne pomanjkljivosti.

## PATOFIZIOLOGIJA FETALNEGA DISTRESA

Fetalni distres je pogosto uporabljen, a slabo definiran izraz za ogroženost ploda. S tem izrazom želimo opredeliti stanje ploda, pri katerem lahko vztrajajoča hipoksemija vodi

**Tabela 1.** Pogoji, ki morajo biti izpolnjeni, da lahko cerebralno paralizo pripišemo hipoksičnemu dogodku med porodom (8). CTG – kardiokografija (angl. *cardiotocography*).

---

**Osnovni pogoji (izpolnjeni morajo biti vsi štirje pogoji)**

---

- Presnovna acidoza v vzorcu krvi iz popkovnične arterije, odvzetega po porodu (pH < 7 in bazni deficit  $\geq -12$  mEq/L).
  - Zgodnji nastanek hude ali zmerne neonatalne encefalopatije pri novorojencu, rojenem v  $\geq 34$ . tednu gestacije.
  - Cerebralna paraliza spastične kvadriplegične ali diskinetične oblike.
  - Izključitev drugih prepoznanih etiologij, kot so poškodba, motnje koagulacije, okužbe ali genetske motnje.
- 

**Dodatni pogoji, ki kažejo na akutni obporodni dogodek (izpolnjeni morajo biti vsaj trije od petih)**

---

- Akutni dogodek, ki se je zgodil neposredno pred oz. med porodom (npr. raztrganje maternice, prezgodnja ločitev posteljice, izpad popkovnice, srčni zastoj pri nosečnici itd.).
  - Bradikardija ploda ali zmanjšana variabilnost v CTG-zapisu ob ponavljajočih se variabilnih ali poznih deceleracijah in predhodno normalnem CTG.
  - Ocena po Apgarjevi lestvici < 3, več kot pet minut po rojstvu.
  - Znaki sistemske prizadetosti (npr. neonatalni krči) < 72 ur po rojstvu.
  - Radiološki znaki generalizirane možganske okvare 1–7 dni po porodu.
- 

v hipoksijo in acidozo ter posledično okvaro tkiv, ki so odvisna od zadostne koncentracije kisika (npr. ledvice, srčno-žilni in osrednji živčni sistem). Osrednji živčni sistem je najbolj ranljiv ob pomanjkanju kisika ter najpogosteje vpleten v dolgoročne poškodbe (9). Cilj ocenjevanja plodovega stanja med porodom je prepoznati ter pravočasno preprečiti hipoksijo ploda med porodom, ki vodi v kognitivne motnje, cerebralno paralizo ali celo smrt ploda.

## DIAGNOZA FETALNEGA DISTRESA

Diagnozo fetalnega distresa postavimo na podlagi prepoznavne patoloških oblik PSU, pomagamo si lahko z dopolnilnimi metodami za določitev presnovnega stanja ploda.

### Nadzor plodovega srčnega utripa Avskultacija s presledki

Z Leopoldovimi prijemi določimo plodovo vstavo in lego ter s tipanjem beležimo popadke. Avskultacijo izvajamo na področju plodovega hrbta ali prsnega koša s Pinar-dovim stetoskopom ali prenosnim doplerskim merilnikom srčnih utripov. PSU poslušamo med posameznima popadkoma ter hkrati tipamo materin pulz, da ločimo

med materinim in plodovim utripom (10). Pri zdravi nosečnici z normalno nosečnostjo avskultiramo vsaj 60 sekund po popadku vsakih 15 minut v prvi porodni dobi in vsakih pet minut v drugi porodni dobi (11). Meritve zapišemo ter zabeležimo morebitne dogodke, ki bi lahko vplivali na PSU. V primeru več kot desetminutnega odstopanja PSU od normalne osnovne frekvence, pojava deceleracij ali dodatnega znaka za morebitno hipoksijo ploda priporočamo nadaljnje spremljanje z neprekinjenim CTG (11). Prednost avskultacije s presledki je, da so inštrumenti poceni, zato se lahko uporabljajo tudi v odročnih krajih, kjer ni dostopa do tehnološko zapletene opreme. Med slabosti štejeemo, da je iskanje PSU lahko zahtevno, še posebej pri porodnicah s prekomerno telesno težo, pri vsaki porodnici je potrebna stalna prisotnost zdravstvenega delavca za nadzor »ena na ena«, avskultacija s presledki ne omogoča ocene variabilnosti utripov (9).

**Neprekinjeno elektronsko spremljanje plodovih srčnih utripov – kardiokografija**  
PSU spremljamo z uporabo zunanje UZ-sonde na trebuhu porodnice oz. direktne elektrode, ki jo skozi nožnico namestimo na plodovo glavico. Za meritev aktivnosti

maternice uporabimo dodatno sondo, ki nam beleži čas in trajanje, ne pa moči popadkov. Pri nosečnostih z večjim tveganjem za hipoksijo ploda (tahikardija, hipertermija ali hipertenzija porodnice, sum na horioamnionitis, sveža krvavitev med porodom, gosta mekonijska plodovnica, tahisistolija (> 5 popadkov/10 minut) in uporaba oksitocina) se odločimo za spremljanje s CTG. Prednost CTG v primerjavi z avskultacijo s presledki je natančnejše prepoznavanje poznih deceleracij, diagnoza spremenjene variabilnosti PSU, istočasna meritev aktivnosti maternice, stalno spremljanje porodnice »ena na ena« ni potrebno. Med slabosti štejejo visoko ceno opreme, vzdrževanje ter dolgotrajno učno krivuljo (9). Analiza oblik zapisa omogoča posvetovanje med zdravstvenimi delavci in se lahko uporablja v pedagoške ter medicinsko-legalne namene.

Pri analizi CTG ocenjujemo osnovno frekvenco, variabilnost in periodične spremembe.

Osnovna frekvenca je srednja vrednost frekvence PSU, ko so le-ti uravnoteženi, brez akceleracij in deceleracij. Določimo jo v časovnem obdobju desetih minut in jo izrazimo s številom utripov na minuto (u/min):

- normalna osnovna frekvenca: 110–160 u/min,
- tahikardija: > 160 u/min ali
- bradikardija: < 110 u/min.

Osnovna frekvenca pada z višino nosečnosti. Tako je pri zelo prezgodnjem porodu (< 32 dopoljenih tednov) normalna osnovna frekvenca bližje zgornji meji (12).

Variabilnost je nihanje PSU okoli osnovne frekvence. Merimo jo z ocenjevanjem razlike v utripih na minuto med najvišjo in najnižjo točko nihaja v enominutnem delu zapisa. Za normalno velja variabilnost 5–25 u/min. Pri variabilnosti < 5 u/min v več kot 50-minutnem zapisu brez ali več kot tri minute med deceleracijami govorimo o zmanjšani variabilnosti. Zmanjšana

variabilnost se lahko pojavi pri hipoksiji ploda, vplivu določenih zdravil ali med spanjem ploda. Pri variabilnosti > 25 u/min govorimo o saltatornem CTG (12, 13).

### **Periodične spremembe – akceleracije in deceleracije**

Akceleracije so prehodno povečanje osnovne frekvence za  $\geq 15$  u/min, ki traja vsaj 15 sekund, ter so znak dobre kondicije ploda, klinični pomen njihove odsotnosti pa ni jasen.

Deceleracije pomenijo prehodno znižanje osnovne frekvence za  $\geq 15$  u/min, ki traja vsaj 15 sekund (oz.  $\geq 10$  u/min, ki traja vsaj deset sekund pri plodu, mlajšem od 32. tednov gestacije). Poznamo več vrst deceleracij (12, 13):

- Zgodnje deceleracije se pojavijo in končajo sočasno s popadki. Niso znak plodove hipoksije.
- Variabilne deceleracije so neredne, različnih oblik in trajanja. Klinične raziskave kažejo, da nastanejo kot odziv na prehodno delno ali popolno zaporo popkovnice.
- Pozne deceleracije se pojavijo po začetku popadka in se končajo za njim. Predstavljajo refleksni odziv ploda na hipoksijo, ki se pojavi ob popadku.
- Podaljšana deceleracija pomeni padec PSU pod osnovno frekvenco, ki traja več kot pet minut, in je patološka. Predstavlja kemoreptorski odziv ploda na prisotno hipoksijo.

Z navedenimi opredelitvami posameznih parametrov CTG-zapisa se danes strinjajo vsa strokovna združenja. Vendar pa se razvrstitevni sistemi v različnih državah pomembno razlikujejo. V večini evropskih držav, tudi v Sloveniji, se najpogosteje uporablja razvrstitev, ki jo je leta 2015 predlagalo mednarodno združenje ginekologov in porodničarjev (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique, FIGO) (tabela 2) (12).

Kompleksnost oblik zapisa srčnega utripa otežuje standardizacijo interpretacije kljub

**Tabela 2.** Razvrstitev značilnosti plodovih srčnih utripov med porodom, ki jo predlaga mednarodno združenje ginekologov in porodničarjev (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique, FIGO) (12).

Zapis	Normalen	Sumljiv	Patološki
Osnovna frekvenca (utripi/minuto)	110-160	brez vsaj ene normalne značilnosti, vendar brez patološke značilnosti	< 100
Variabilnost (utripi/minuto)	5-25		< 5 ali > 25
Deceleracije	brez ali zgodnje		ponavljajoče se pozne ali podaljšane deceleracije, ki trajajo več kot 30 minut, ali podaljšana deceleracija, ki traja več kot 5 minut
Interpretacija	ni hipoksije ali acidoze	majhna verjetnost za hipoksijo ali acidozo	velika verjetnost za hipoksijo ali acidozo

uvveljavljenim smernicam (12). Dokazano je bilo, da pri interpretaciji CTG prihaja do nesoglasij med izkušenimi kliniki (14-16). Nedavna multicentrična evropska raziskava je dokazala tudi subjektivnost opazovalca CTG-zapisa v primeru znanega izida izhoda poroda, kar postavlja pod vprašanje primernost oz. ustreznost odločitev o porodniških ukrepih, ki prinašajo dodatna tveganja za mater in plod (17). Sumljivi in patološki zapisi CTG imajo omejeno sposobnost napovedovanja presnovne acidoze in nizke ocene po Apgarjevi, kar uvršča CTG med občutljive metode za prepoznavanje hipoksije in acidoze ploda, a z nizko specifičnostjo in nizko pozitivno napovedno vrednostjo (18). V želji po objektivizaciji analize CTG-zapisa je bila razvita računalniška programska oprema, ki objektivno prepozna nenormalne oblike plodovega srčnega utripa med porodom. Nedavna raziskava skupine INFANT ni poročala o dokazih izboljšanja neonatalnih izidov pri analizi CTG s pomočjo programske opreme v primerjavi z navadnim CTG (19).

### **Analiza ST-segmenta pri elektrokardiografiji ploda**

Naprava STAN (angl. *ST analysis*) se lahko uporablja kot dopolnilna metoda elektronskemu spremljanju PSU. Pogoj so predrti plodovi ovojji za namestitev elektrode na

plodovo glavico, zaradi česar se lahko uporabljajo zgolj pri porodu v teku in je bolj invazivna metoda v primerjavi s CTG. Podatki o plodovem EKG-ju odsevajo presnovno srčne mišice in acidobaznega ravnotežja ploda. Acidemija ploda je povezana s povišano amplitudo T-vala, hipoksija srčne mišice pa z dvigom ST-segmenta v plodovem EKG (20, 21). Monitor za analizo ST-segmenta uporablja orodje, ki zazna omenjene spremembe v EKG in z vidnim signalom opozori ob pojavu. Čeprav so nekatere randomizirane raziskave nakazale možnost, da uporaba STAN-a zmanjša tveganje za hipoksično encefalopatijo novorojenca, ne da bi povečala incidenco operativnih dokončan poroda, je zadnja večja multicentrična randomizirana raziskava pokazala, da ni pomembne dopolnilne koristi STAN-a pri izboljševanju izidov za novorojenca ali zmanjšanju incidence carskih rezov ali operativnih dokončan vaginalnih porodov pri porodih, kjer se stanje ploda spremlja s CTG (22-24).

Nobena izmed trenutnih metod za nadzor plodovega stanja ni idealna, zato so nove diagnostične tehnike predmet številnih kliničnih raziskav. Mednje sodijo npr. neinvazivna fetalna elektrokardiografija, pri kateri se s pomočjo elektrod, nameščenih na trebuh porodnice, z ekstrakcijo električne aktivnosti materinih trebušnih mišic in

srca izolira plodov EKG. To poleg določitve frekvence PSU omogoča tudi oceno morfologije PR-, QT- in ST-intervalov, ki v določenih primerih napovedujejo patološko dogajanje (25–27). Bližnja infrardeča spektroskopija omogoča oceno tkivne oksigenacije v realnem času. Predhodne raziskave so že potrdile povezavo med upadom cerebralne oksigenacije ploda in acidozo novorojenca (28–30). Trenutno pri omenjenih tehnikah sicer še obstajajo številne tehnične ovire, težave v procesiranju signalov in finančne omejitve, ki jih bo v prihodnosti treba odpraviti.

### Acidobazni status ploda

Za izboljšanje specifičnosti CTG si lahko pomagamo z dopolnilnimi metodami, kot sta pH-metrija ali digitalna stimulacija. Vzorčenje kapilarne krvi iz plodovega lasišča – pH-metrija je najnatančnejša metoda za odkrivanje acidoze ploda (tabela 3) (9). Zanj se odločimo, ko na podlagi CTG sumimo na hipoksijo, ki ni dovolj huda, da bi bilo potrebno takojšnje dokončanje poroda (31). Pogoji za preiskavo so vsaj dva do tri centimetre odprto maternično ustje, predrti plodovi ovoji ter vstop vodilnega plodovega dela v porodni kanal. Vzorec krvi s plodovega lasišča odvezamemo s pomočjo lance-te in zbiralne cevke.

Metoda je kontraindicirana v primerih okužbe pri materi (genitalne okužbe, HIV), motenj strjevanja krvi pri plodu ali nedonošenosti (< 34 tednov). V primeru jasne ogroženosti ploda ne izvajamo pH-metrije, ampak se odločimo za takojšen porod. Alternativa pH-metriji je digitalna stimulaci-

ja. Raziskovalci so dokazali, da akceleracije PSU po digitalni stimulaciji lasišča ploda pomenijo, da plod zelo verjetno ni hipoksičen. V kolikor se plod na dražljaje ne odzove, obstaja 50 % verjetnost za hipoksijo (31).

### Mekonijska plodovnica

Mekonij sestavlja vsebino plodovega črevesa. Ob hipoksiji se lahko zaradi vazokonstrikcije v črevesju izloči v plodovnico. Po mnenju številnih strokovnjakov prisotnost zgolj mekonija v plodovnici ni zadosten znak za fetalni distress. Skupaj z drugimi metodami za oceno plodovega stanja predstavlja del celotne klinične slike (32).

### UKREPANJE OB SUMU NA FETALNI DISTRES

Pri sumu na pojav fetalnega distresa med porodom postopamo stopenjsko.

#### Preventivni ukrepi

S preventivnimi ukrepi skušamo popraviti reverzibilne vzroke fetalnega distresa; prekomerno aktivnost maternice, aortnokavalno stisnenje in nenadno hipotenzijo matere (14).

Prekomerna aktivnost maternice je najpogostejši reverzibilni vzrok hipoksije ploda. Oksitocin je treba odmerjati natančno, s pomočjo infuzijskih črpalk in infuzijo prekiniti ob pojavu sumljivega ali patološkega CTG. Na ta način umirimo popadke in izboljšamo posteljično prekrvavitev.

Aortokavalno stisnenje najpogosteje nastane zaradi lege porodnice na hrbtu. Pritisk noseče maternice na spodnjo votlo veno

**Tabela 3.** Interpretacija pH-metrije.

Vrednost pH	Izvid	Interpretacija
> 7,25	normalen izvid	test se ponovi po potrebi
7,20–7,25	mejne vrednosti	ponavljaj na 15–30 minut
< 7,20	acidoza	potrebno je dokončanje poroda



zmanjša dotok krvi do posteljice. Lega na levem boku sprosti stisnenje in izboljša pretok. Stanje ploda lahko izboljšamo z lego porodnice v bočnem položaju.

Nenadna hipotenzija matere je lahko posledica uporabe področne analgezije. Z infuzijo tekočin navadno dosežemo izboljšanje. Kadar to ne zadostuje, je treba uporabiti vazopresorje (najpogosteje se v ta namen uporabljata efedrin in fenilefrin).

### **Porodniški ukrepi**

Sumljiv ali patološki CTG lahko vztraja kljub preventivnim ukrepom in ogroža plod. V tem primeru je potrebno takojšnje dokončanje poroda. Izbira med operativnim dokončanjem vaginalnega poroda in carskim rezom je odvisna od odprtja materničnega ustja in višine vodilnega plodovega dela. Za vsako porodnico se posamično odločimo o dokončanju poroda v najkrajšem času brez izpostavitve matere in ploda nepotrebnim posegom (14).

### **ZAKLJUČEK**

Eden najpomembnejših ciljev v perinatalni medicini je porod zdravega novorojenca brez nevroloških poškodb, ki lahko nastanejo kot posledica obporodne hipoksije. Cilj nadzora plodovega stanja med porodom je pravočasno preprečiti hipoksično okvaro osrednjega živčnega sistema, ki lahko vodi v kognitivne motnje, cerebralno paralizo ali celo smrt ploda. Od uvedbe CTG v klinično prakso opažamo nižjo incidenco neonatalnih krčev pri porodnicah z majhnim tveganjem, vendar je incidenca cerebralne paralize in perinatalne umrljivosti ostala enaka, incidenca operativnih dokončanj poroda pa se je pomembno zvišala. Trenutno ne obstaja nobena učinkovitejša metoda za nadzor ploda med porodom, zato CTG ostaja najbolj uporabljena metoda za nadzor ploda v večini modernih porodnišnic. Številne klinične raziskave preučujejo nove metode za nadzor stanja ploda, ki bi omogočale natančnejšo prepoznavo ogroženosti ploda za hipoksijo ter znižale stopnjo nepotrebnih operativnih dokončanj porodov.

**LITERATURA**

1. Daftary SN, Chakravarti S, Pai MV, et al., eds. *Holland & Brews manual of obstetrics ex-book*. 4th ed. Chennai: Elsevier Health Sciences; 2015.
2. Alfirevic Z, Devane D, Cyte GM, et al. Continuous cardiotocography (CTG) as a form of electronic fetal monitoring (EFM) for fetal assessment during labour. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 2: CD006066.
3. MacDonald D, Grant A, Sheridan-Pereira M, et al. The Dublin randomized controlled trial of intrapartum fetal heart rate monitoring. *Am J Obstet Gynecol*. 1985; 152 (5): 524–39.
4. Kelso IM, Parsons RJ, Lawrence GF, et al. An assessment of continuous fetal heart rate monitoring in labor. A randomized trial. *Am J Obstet Gynecol*. 1978; 131 (5): 526–32.
5. Mahomed K, Nyoni R, Mulambo T, et al. Randomised controlled trial of intrapartum fetal heart rate monitoring. *BMJ*. 1994; 308 (6927): 497–500.
6. Blair E, Stanley FJ. Intrapartum asphyxia: a rare cause of cerebral palsy. *J Pediatr*. 1988; 112 (4): 515–9.
7. Badawi N, Kurinczuk JJ, Keogh JM, et al. Antepartum risk factors for newborn encephalopathy: the Western Australian case-control study. *BMJ*. 1998; 317 (7172): 1549–53.
8. Ghia C, Prozzillo L, Leguizamón G. Intrapartum care and fetal surveillance. In: Reece EA, Barbieri RL, eds. *Obstetrics and Gynecology: The Essentials of Clinical Care*. New York: Thieme; 2010. p. 91–8.
9. The Royal College of Midwives. Evidence based guidelines for midwifery-led care in labour. Intermittent Auscultation [internet]. London: The Royal College of Midwives; c2012–2018 [citirano 2018 Aug 1]. Dosegljivo na: [https://www.rcm.org.uk/sites/default/files/Intermittent%20Auscultation%20\(IA\)\\_0.pdf](https://www.rcm.org.uk/sites/default/files/Intermittent%20Auscultation%20(IA)_0.pdf)
10. National Institute for Health and Care Excellence. Intrapartum care for healthy women and babies. Clinical guideline [CG190] [internet]. London: National Institute for Health and Care Excellence; c2014–2017 [citirano 2018 Aug 1]. Dosegljivo na: [www.nice.org.uk/guidance/cg190](http://www.nice.org.uk/guidance/cg190)
11. Ayres-de-Campos D, Spong CY, Chandrharan E, et al. FIGO consensus guidelines on intrapartum fetal monitoring: Cardiotocography. *Int J Gynaecol Obstet*. 2015; 131 (1): 13–24.
12. Robinson B. A review of NICHD standardized nomenclature for cardiotocography: The importance of speaking a common language when describing electronic fetal monitoring. *Rev Obstet Gynecol*. 2008; 1 (2): 56–60.
13. Paneth N, Bommarito M, Stricker J. Electronic fetal monitoring and later outcome. *Clin Invest Med*. 1993; 16 (2): 159–65.
14. Ayres-de-Campos D, Bernardes J, Costa-Pereira A, et al. Inconsistencies in classification by experts of cardiotocograms and subsequent clinical decision. *Br J Obstet Gynaecol*. 1999; 106 (12): 1307–10.
15. Blackwell SC, Grobman WA, Antoniewicz L, et al. Interobserver and intraobserver reliability of the NICHD 3-tier fetal heart rate interpretation system. *Am J Obstet Gynecol*. 2011; 205 (4): 378.
16. Reif P, Schott S, Boyon C, et al. Does knowledge of fetal outcome influence the interpretation of intrapartum cardiotocography and subsequent clinical management? A multicentre European study. *BJOG*. 2016; 123 (13): 2208–17.
17. Spencer JA. Clinical overview of cardiotocography. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993; 100 Suppl 9: 4–7.
18. The INFANT Collaborative Group. Computerised interpretation of fetal heart rate during labour (INFANT): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2017; 389 (10080): 1719–29.
19. Westgate JA, Bennet L, Brabyn C, et al. ST waveform changes during repeated umbilical cord occlusions in near-term fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 2001; 184 (4): 743–51.
20. Watanabe T, Okamura K, Tanigawara S, et al. Change in electrocardiogram T-wave amplitude during umbilical cord compression is predictive of fetal condition in sheep. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 166 (1): 246–55.
21. Neilson JP. Fetal electrocardiogram (ECG) for fetal monitoring during labour. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003; 2: CD000116.
22. Amer-Wählin I, Hellsten C, Norén H, et al. Cardiotocography only versus cardiotocography plus ST analysis of fetal electrocardiogram for intrapartum fetal monitoring: a Swedish randomised controlled trial. *Lancet*. 2001; 358 (9281): 534–8.
23. Belfort MA, Saade GR, Thom E, et al. A randomized trial of intrapartum fetal ECG ST-segment analysis. *N Engl J Med*. 2015; 373 (7): 632–41.
24. Castillo E, Morales DP, García A, et al. A clustering-based method for single-channel fetal heart rate monitoring. *PLoS ONE*. 2018; 13 (6): e0199308.
25. Taylor M, Smith M, Thomas M, et al. Non-invasive fetal electrocardiography in singleton and multiple pregnancies. *BJOG*. 2003; 110 (7): 668–78.

26. Martinek R, Kahankova R, Nazeran H, et al. Non-invasive fetal monitoring: a maternal surface ECG electrode placement-based novel approach for optimization of adaptive filter control parameters using the LMS and RLS algorithms. *Sensors (Basel)*. 2017; 17 (5): 1154.
27. Clifford GD, Silva I, Behar J, et al. Non-invasive fetal ECG analysis. *Physiol Meas*. 2014; 35 (8): 1521–36.
28. Kakogawa J, Kanayama N. Application of near-infrared spectroscopy for the evaluation of placental oxygenation. *The Open Medical Devices Journal*. 2012; 4 (1): 22–7.
29. Peebles DM, Edwards AD, Wyatt JS, et al. Changes in human fetal cerebral hemoglobin concentration and oxygenation during labor measured by near-infrared spectroscopy. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 166 (5): 1369–73.
30. Low JA. Intrapartum fetal asphyxia: definition, diagnosis, and classification. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; 176 (5): 957–9.
31. Clark SL, Gimovsky ML, Miller FC. The scalp stimulation test: a clinical alternative to fetal scalp blood sampling. *Am J Obstet Gynecol*. 1984; 148 (3): 274–7.
32. Meis PJ, Hobel CJ, Ureda JR. Late meconium passage in labor—a sign of fetal distress? *Obstet Gynecol*. 1982; 59 (3): 332–5.

Prispelo 25. 10. 2018



Metka Sluga<sup>1</sup>, Simon Hawlina<sup>2</sup>, Jan Grosek<sup>3</sup>

## Divertikulitis sigme s fistulo v sečni mehur – prikaz primera in pregled literature

### *Sigmoid Diverticulitis with Colovesical Fistula – a Case Report with Literature Review*

#### IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: divertikuloza, divertikulitis, kolovezikalna fistula, pnevmaturija, fekalurija

Divertikli debelega črevesa so večinoma klinično nemi. Kadar pri bolnikih nastopijo težave, se običajno kažejo z blago in nespecifično klinično sliko. V ospredju so krčevite bolečine v spodnjem delu trebuha in napihnjenost, lahko pride tudi do sprememb v odvajanju blata in drugih težav s prebavo. Do divertikulitisa, ki nastane kot posledica predrtja posameznega divertikla in vnetne reakcije v njegovi okolici, pride pri 20–30% bolnikov. Vnetni proces je najpogostejše enostaven, zadostuje zgolj konzervativno zdravljenje. Zapletene oblike divertikulitisa pa po drugi strani pogosto zahtevajo kirurško ukrepanje. V prispevku opisujemo primer 33-letnega moškega, ki je bil bolnišnično zdravljen zaradi prisotnosti blata in zračnih mehurčkov v seču. Postavljena je bila diagnoza kolovezikalne fistule kot zaplet divertikulitisa, temu pa je sledilo kirurško zdravljenje v sodelovanju abdominalnih kirurgov in urologov.

#### ABSTRACT

KEY WORDS: diverticulosis, diverticulitis, colovesical fistula, pneumaturia, fecaluria

Colon diverticulosis generally remains clinically asymptomatic. When patients do develop symptoms, they are usually mild and unspecific. The most prominent symptoms are colicky pain in the lower abdomen and bloating, digestive problems may also occur. Diverticulitis develops in 20–30% of patients, when an individual diverticulum is penetrated and its surroundings become inflamed. The inflammation is usually simple and conservative therapy is sufficient. On the other hand, the complicated forms generally require surgical treatment. Here we present the case of a 33-year old male, admitted to the hospital due to fecaluria and pneumaturia. The diagnosis of colovesical fistula was made, followed by surgical treatment in collaboration with abdominal surgeons and urologists.

<sup>1</sup> Metka Sluga, dr. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; metkasluga9@gmail.com

<sup>2</sup> Asist. Simon Hawlina, dr. med., Klinični oddelek za urologijo, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; Katedra za kirurgijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 7, 1104 Ljubljana; simon.hawlina@kclj.si

<sup>3</sup> Doc. dr. Jan Grosek, dr. med., Klinični oddelek za abdominalno kirurgijo, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; Katedra za kirurgijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 7, 1104 Ljubljana; jan.grosek@kclj.si

## UVOD

Izraz divertikuloza debelega črevesa pomeni prisotnost divertiklov v črevesni steni. Pridobljene strukturne spremembe nastanejo z izbočenjem mukozne in submukozne plasti črevesa skozi njegovo krožno mišično plast in so pogosto posledica degeneracije črevesne stene ter povečanega pritiska nanjo (1).

Pogostost divertikuloze narašča s starostjo. Kar polovica ljudi, starejših od 60 let, in več kot 70 %, starejših od 80 let, naj bi imelo bolj ali manj izraženo divertikulozo debelega črevesa. Vzrok temu je predvsem starostna oslabeitev in degeneracija črevesne stene ter povečan pritisk v področju vstopa krvnih žil vanjo. V starosti nad 50 let je divertikuloza pogostejša pri ženskah, pri mlajših od 50 let pa se pogosteje pojavlja pri moških. Mnogo pogosteje jo najdemo pri prebivalcih zahodnih in industrializiranih držav (1). Bolezen lahko prizadene kateri koli del debelega črevesa (z izjemo danke), vendar je v zahodnem svetu daleč najpogostejša v področju sigme (1, 2).

Glavni vzrok za nastanek divertikuloze pogosto pripisujejo dieti z nizko vsebnostjo vlaknin ter nezdravemu načinu življenja, ki vključuje debelost, kajenje in premalo gibanja. Povečano tveganje predstavlja tudi jemanje določenih zdravil, kot so nesteroidna protivnetna zdravila, kortikosteroidi in opiat. Novejše teorije vloge pri nastanku divertikuloze prisojajo tudi genetskim vzrokom, spremembam črevesnega mikrobioma ter stanjem, ki povzročajo zmanjšano gibljivost črevesa (1).

Bolniki z divertikulozo pogosto nimajo nobenih težav. Divertikle odkrijemo naključno med kolonoskopijo ali katero drugo slikovno diagnostično preiskavo trebuha. Kadar je bolezen simptomatska, se najpogosteje kaže z bolečinami v trebuhu (po navadi v levem spodnjem delu), slabostjo, bruhanjem, napihnjenostjo ter zaprtjem ali drisko. Bolezenski znaki se lahko pojavijo zelo redko, lahko pa ima bolezen po-

navljajočo se obliko, z več epizodami na leto (1, 2).

Pri 10–25 % bolnikov z znano divertikulozo se ta zaplete s pojavom divertikulitisa, vnetjem posameznega divertikla. Ta se poleg zgoraj opisane klinične slike običajno kaže tudi s povišanimi kazalniki vnetja in zvišano telesno temperaturo. Neustreznemu zdravljenemu divertikulitisu lahko sledijo številni dodatni zapleti. Pri do 15 % bolnikov pride do krvavitve iz divertikla, ki je tudi najpogostejši vzrok krvavitve v črevesje pri starejših od 60 let. Ta običajno nastane nenadno in se v večini primerov tudi samodejno zaustavi (2–4).

## AKUTNI DIVERTIKULITIS

Akutni divertikulitis je vnetje divertikla, ki ga lahko spremlja njegovo predrtje. Do tega pride, kadar se v divertiklu zgosti in zadrži blato, kar prekine normalno oskrbo črevesne stene s krvjo. Temu sledi še vdor bakterij, ki povzročijo nastanek vnetja in nekroze črevesne stene (2). Ločimo nezapleteni in zapleteni divertikulitis. Do slednjega pride, če vnetje spremlja kateri izmed zapletov, kot so absces ali flegmona, fistula, krvavitev, zapora oz. zožitev prebavne cevi ter predrtje s peritonitisom. Za kirurško razvrstitev zapletenega akutnega divertikulitisa debelega črevesa se najpogosteje uporablja Hincheyjeva klasifikacija, ki bolezenski proces deli na štiri kategorije (5):

- I: perikolični absces ali flegmona,
- II: medenični ali retroperitonealni absces,
- III: generalizirani gnojni peritonitis (kot posledica predrtja ognjoka iz Hincheyjeve kategorije II) in
- IV: sterkoralni peritonitis (prosto predrtje črevesne stene z izlivom fekulentne vsebine).

## Klinična slika

Klinična slika akutnega divertikulitisa je odvisna od njegove oblike. Običajno se divertikulitis kaže z nenadno nastalo bolečino, najpogosteje v spodnjem levem kvadrantu

trebuha. Pogosti so tudi driska ali zaprtje, slabost, ki jo lahko spremlja bruhanje ter dizurija. Bolnik ima po navadi povišano telesno temperaturo.

Pri pregledu ugotovimo občutljivost trebušne stene, lahko je prisoten tudi mišični odpor in tipna masa v predelu vnetja. Možni so še dodatni znaki, ki so posledica različnih zapletov bolezni. Kadar vnetni tumor zapre lumen črevesa, lahko opazimo znake zaporne ileusa (1, 2, 4–6).

V laboratorijskih preiskavah izstopajo povišane vrednosti kazalnikov vnetja. Prisotnost bolečine v spodnjem levem kvadrantu trebuha, odsotnost bruhanja ter vrednost C-reaktivne beljakovine (angl. *C-reactive protein*, CRP) nad 50 mg/l znatno povečajo verjetnost za prisotnost divertikulitisa (6).

Neustrezno ali nepravočasno zdravljen zapleten divertikulitis pa lahko vodi do sepse in končno do septičnega šoka.

## Diagnostika

Ob sumu na divertikulitis je potrebna kontrola celotne krvne slike z oceno elektrolitskega stanja in delovanja ledvic. Smiselna je tudi analiza seča za izključitev okužbe urinarnega trakta ter izključitev nosečnosti pri ženskah. Potrebna je meritev kazalnikov vnetja, kljub temu da je levkocitoza prisotna le pri nekaj več kot polovici vseh bolnikov z akutnim divertikulitisom (6). Kot že omenjeno, vrednost CRP nad 50 mg/l ob ustrezni klinični sliki močno poveča verjetnost diagnoze divertikulitisa. Od slikovno-diagnostičnih metod sta v primeru akutnega divertikulitisa in njegovih zapletov najprimernejša UZ in CT. UZ nam sicer omogoča zelo natančno diagnostiko, vendar v nekaterih primerih z njim težko ocenimo obseg večjih abscesov ali pa nam težave pri diagnosticiranju povzroča prosti zrak v trebušni votlini. Kot optimalna diagnostična metoda se priporoča CT trebuha in medenice s kontrastom. Preiskava nam pokaže zadebelitev črevesne stene in vnetje oz. spremembe občrevesnega maščevja, omogoča

pa tudi odkrivanje bolj specifičnih znakov, kot so abscesi, zadebelitev fascije, prosti zrak, viden vnet divertikel ali flegmona. CT s kontrastom je pomemben tudi pri diagnosticiranju zapletov divertikulitisa. Alternativna diagnostična metoda je tudi MRI, vendar se ta zaradi dolgotrajnosti izvedbe pri kritično bolnih bolnikih odsvetuje.

Kolonoskopija je v primeru suma na akutni divertikulitis kontraindicirana, kljub temu da je sicer metoda prvega izbora pri odkrivanju same divertikuloze. V primeru divertikulitisa je ta preiskava za bolnika zelo boleča, poleg tega pa obstaja tudi možnost predrtja črevesa. Kolonoskopija je priporočljiva štiri do šest tednov po razrešitvi zapletenih oblik divertikulitisa za potrditev diagnoze ter izključitev drugih vzrokov za bolnikove težave (3, 4, 6).

Diferencialno diagnostično moramo ob bolečinah v trebuhu in spremembah v odvajanju blata pomisliti na Crohnovo bolezen ali ulcerozni kolitis. Ob podobnih simptomih, ki jih spremljajo epizode hipotenzije, je treba pomisliti na ishemični kolitis. V okviru ostalih črevesnih bolezni se z diagnostiko izključuje tudi infekcijski gastroenteritis, akutni apendicitis, sindrom razdražljivega črevesa ter maligna obolenja. Prav tako je treba izključiti bolezni sečil in ginekološka obolenja.

## Zdravljenje

Zdravljenje akutnega divertikulitisa je odvisno od stopnje resnosti vnetja ter bolnikovih pridruženih bolezni in splošnega stanja. Pri nezapletenih oblikah običajno zadoštuje konzervativno zdravljenje, medtem ko zapletene oblike pogosto zdravimo kirurško.

Pri zdravljenju nezapletenih oblik je potrebna kombinacija dveh širokospektralnih antibiotikov, tekoča dieta ali popolna prekinitev uživanja hrane, počitek ter lokalno hlajenje nad obolelim mestom. Antibiotično zdravljenje mora biti usmerjeno proti aerobnim in anaerobnim gramnegativnim bakterijam (1). V primeru blage oblike bolezni,



ki jo bolnik dobro prenaša, je možno oralno jemanje zdravil s kontrolo stanja čez dva do tri dni. Kadar se obolenje kaže v hujši obliki in bolnik ne more oralno zaužiti antibiotikov oz. ima številne pridružene bolezni, je potrebno bolnišnično zdravljenje s prekinitvijo uživanja hrane in pijače, nadomeščanjem tekočin ter intravenskim dajanjem antibiotikov (6). V dveh do treh mesecih po ozdravitvi je potrebna tudi kontrolna kolonoskopija za izključitev malignoma debelega črevesa (4).

Pri zapletenih oblikah divertikulitisa zgolj konzervativno zdravljenje pogosto ne zadošča.

#### **Perkutana drenaža**

Ognojke (abscese), večje od 5 cm, je treba sčistiti. Metoda izbora je perkutana drenaža, po navadi vodena pod kontrolo UZ ali CT (5). V primeru da perkutana drenaža ni izvedljiva, je potrebna laparoskopska ali klasična kirurška drenaža.

#### **Hartmannova operacija**

Za razrešitev bolezni v višjih stadijih, ob prisotnosti peritonitisa (Hinchey III in IV), je potrebna urgentna operacija. Kirurška metoda izbora je odstranitev obolelega dela črevesa brez tvorbe anastomoze, t. i. Hartmannova operacija. Prosti konec descendentnega dela debelega črevesa izpeljemo skozi trepanacijo v levi spodnji kvadrant kot končno kolostomo, prosti konec zgornjega dela danke pa slepo zapremo (4, 7). Zaradi vdora bakterij v trebušno votlino je črevesna anastomoza tvegana in se zanjo odločimo le izjemoma.

#### **Laparoskopska lavaža**

V zadnjem času nekateri avtorji kot možnost za zdravljenje divertikulitisa opisujejo tudi laparoskopsko lavažo. V tem primeru se trebušno votlino laparoskopsko izpere s fiziološko raztopino, vstavi abdominalni dren in nadaljuje s konzervativnim zdravljenjem. Na ta način se izognemo takojšnji odstra-

nitvi črevesa in se lahko v nekaj mesecih odločimo za izvedbo odstranitve s primarno anastomozo (4, 8, 9). Laparoskopska lavaža pride v poštev pri divertikulitisih II. kategorije po Hincheyjevi klasifikaciji, pri katerih drenaža abscesa s pomočjo radioloških metod ni mogoča, ter pri Hincheyjevi kategoriji III, če je bolnik hemodinamsko stabilen. Kadar je pri bolniku že prišlo do fekalnega onesnaženja trebušne votline (Hinchey IV), kadar predrtje abscesa ni zamajeno ali v primeru hemodinamske nestabilnosti, je kot kirurško zdravljenje indicirana Hartmannova operacija (7).

## **KOLOVEZIKALNA FISTULA KOT ZAPLET AKUTNEGA DIVERTIKULITISA**

### **Etiopatogeneza**

Kolovezikalna fistula je patološka povezava med svetlino debelega črevesa in sečnim mehurjem. Najpogostejši vzrok za njen nastanek je prav divertikulitis sigme. Nastane kot posledica peridivertikularnega vnetja, ki napreduje v absces in sčasoma poruši integriteto stene sosednje anatomske strukture ter vanjo prodre (3).

Incidenca kolovezikalne fistule pri bolnikih z znanim divertikulitisom znaša od 2 do 23 %. Je 2- do 3-krat pogostejša pri moških kot pri ženskah, domnevno zaradi širokih ligamentov maternice, ki učinkujejo kot pregrada med mehurjem in sigmo (10). Druga pogostejša vzroka za njen nastanek sta malignom debelega črevesa ter Crohnova bolezen. Ostali vzroki so precej redkejši. Poleg bolezenskega izvora je lahko fistula posledica posegov v trebušni votlini, žilnih in uroloških posegov ter kemo- in radioterapije (11).

### **Klinična slika**

Klinična slika kolovezikalne fistule odraža prizadetost tako gastrointestinalnega kot urinarnega trakta. Mnogo pogostejše prevladujejo simptomi spodnjega urinarnega

trakta. Največkrat se prisotnost fistule kaže s pnevmaturijo, fekalurijo, suprapubično bolečino, urgentnim uhajanjem seča, pogostim uriniranjem ter dizurijo. Pogoste so tudi ponavljajoče se okužbe urinarnega trakta (11, 12). Zlasti pnevmaturija in fekalurija sta prisotni v veliki večini primerov in sta praktično patognomonični za fistule urinarnega trakta. Simptomi s strani gastrointestinalnega trakta so po navadi posledica samega divertikulitisa. Od znakov je najpogostejši smrdč seč z vidnimi drobnimi delci blata, prisotna pa je lahko tudi povišana telesna temperatura in splošna oslabeledost (12).

## Diagnostika

Diagnostiko kolovezikalne fistule v osnovi lahko delimo na tri korake (13):

- 1. korak – potrditev obstoja fistule,
- 2. korak – določitev njene lege in
- 3. korak – določitev izvora njenega nastanka.

Ob prisotnosti tipičnih simptomov in znakov je diagnoza lahko klinična, kljub temu pa je za opredelitev natančne anatomske lege, načrtovanje poteka zdravljenja in izključevanje maligne podlage za njen nastanek potrebna tudi slikovna diagnostika.

Najbolj priporočljiva je uporaba CT trebuha in medenice s kontrastom. Kontrastno sredstvo je treba dati oralno ali rektalno. Intravenski vnos ni primeren, saj se kontrastno sredstvo v tem primeru izloča skozi ledvice, kar lahko da lažno pozitiven rezultat (12). Najdbe, ki govorijo v prid diagnoze fistule, so prisotnost prostega zraka v mehurju, prisotnost kontrastnega sredstva v mehurju, prisotnost divertiklov ter zadebeljena stena mehurja ob zadebeljeni črevesni vijugi. CT lahko potrdi tudi etiologijo fistule ter njen natančen potek (3, 11, 12, 14). Kolonoskopija sicer ni primerna metoda za odkrivanje fistul, potrebna pa je za določanje njene etiologije, zlasti kadar gre za malignen proces v črevesju. Pri diagnostiki je lahko v pomoč tudi transabdominalni UZ, s kate-

rim si v nekaterih primerih fistulo dokaj enostavno prikažemo (11). Tudi z MRI si lahko zelo natančno prikažemo potek fistule, njeno vsebino ter anatomijo sosednjih struktur. Metode se zaradi njene zamudnosti in cene v urgentnih situacijah po navadi ne poslužujemo (11, 12).

Ob sumu na maligni izvor fistule je smiselno narediti tudi cistoskopijo, da se izključi vdor tumorja v sečni mehur. Za dokazovanje same fistule ta metoda ni primerna in pogosto prikaže nespecifične najdbe, kot so edem, eritem ali razjeda na notranji steni mehurja (11, 12).

Za enostavno potrditev diagnoze je opisan tudi test z makovimi zrnji. Bolnik zaužije do 250 gramov makovih zrn, njihova prisotnost v seču v naslednjih 48 urah pa dokaže obstoj fistule. Metoda ima praktično stoodstotno stopnjo odkritja, je poceni in enostavno izvedljiva. Kljub temu pa z njo ne dobimo nobenih podatkov o legi fistule in sosednjih struktur, zato je primerna v začetni fazi diagnostike, kadar želimo zgolj potrditi njen obstoj (10–12).

## Zdravljenje

Zdravljenje kolovezikalne fistule je lahko konzervativno ali, mnogo pogosteje, kirurško.

Konzervativno zdravljenje temelji na popolni parenteralni prehrani, antibiotičnem in imunomodulatornem zdravljenju, drenaži mehurja ter vzpostavitvi začasne kolostome. Omogočila naj bi spontano zaprtje fistule in preprečevala nastanek urosepse. Izkazalo se je, da je bilo število fistul, ki bi se samostojno zaprle, prenizko, število okužb urinarnega trakta pa se ni bistveno zmanjšalo. Prihajalo je tudi do ponovnih nastankov fistul. Tako se konzervativnih metod danes poslužujemo le v primeru, da bolnik zaradi pridruženih bolezenskih stanj ni primeren kandidat za operacijo, ali ob prisotnosti večjih, kirurško neodstranljivih novotvorb (11–13, 15).

Kirurško zdravljenje je odvisno od etiologije fistule, njene lege ter bolnikovega

splošnega stanja. V primeru nezapletenih, benignih ali malignih fistul zadostuje zgolj odstranitev debelega črevesa s primarno anastomozo. V težjih primerih je kirurško zdravljenje večstopenjsko. To so primeri, pri katerih je že prišlo do fekulentnega izliva ali nastanka večjega abscesa, kadar bolnik prejema kortikosteroidno zdravljenje, je bil predhodno obsevan v področju medenice ali je hemodinamsko nestabilen (12).

Večstopenjske kirurške tehnike vključujejo (12, 15):

- odstranitev debelega črevesa v predelu fistule, vzpostavitev anastomoze in diverzijo,
- Hartmannovo operacijo in
- tristopenjski poseg (odstranitev debelega črevesa s končno kolostomo, anastomoza debelega črevesa z zaščitno stomo ter zaprtje kolostome).

V literaturi se vse pogosteje omenja tudi laparoskopsko, enostopenjsko tehniko, vendar se ta kljub nekaterim pozitivnim rezultatom raziskav še ni uveljavila kot enakovredna klasičnim pristopom.

Po odstranitvi fistule se stena mehurja zapre z razgradljivimi šivi. Včasih je potrebna delna cistektomija zaradi vdora malignega procesa, nekroze ali zadebelitve stene mehurja (14, 16).

Postoperativno je za oskrbo mehurja potrebna zgolj vstavitev urinskega katetra. Za zacelitev zadostuje sedemdnevna drenaža (17).

## **PRIKAZ PRIMERA**

33-letni moški je bil februarja 2018 ambulantno pregledan pri gastroenterologu zaradi tri leta trajajočih težav s pogostim odvajanjem blata (10- do 15-krat dnevno) s spremljajočimi krči in bolečinami v trebuhu, opazil pa je tudi kri v blatu. Druge, izvenčrevesne simptomatike ob tem ni navedel. Sicer se je zdravil zaradi arterijske hipertenzije in je bil kadilec. Postavljen je bil sum na kronično vnetno črevesno bolezen.

Kot zdravljenje je bil uveden Salofalk 3 g, po katerem se je stanje izboljšalo. Bolnik je bil napoten na gastrokopijo in kolonoskopijo. Gastrokopija ni pokazala večjih posebnosti, kolonoskopija pa je bila zaradi stenoze nad sigmo opravljena le delno. V tem predelu so bili vidni številni divertikli ter prisotno peridivertikularno vnetje. Opravljen je bil tudi CT trebuha, ki razen divertiklov in zadebeljene črevesne stene v predelu sigme ni pokazal večjih posebnosti.

Oktober 2018 je bil bolnik bolnišnično zdravljen na kliničnem oddelku za gastroenterologijo, saj je med uriniranjem v seču opazil zračne mehurčke. V zadnjih dneh je po odvajanju blata v seču opazil tudi spremembe v velikosti makovega zrna, sumljive za blato. Ob navedeni anamnezi je bil postavljen sum na vezikointestinalno fistulo.

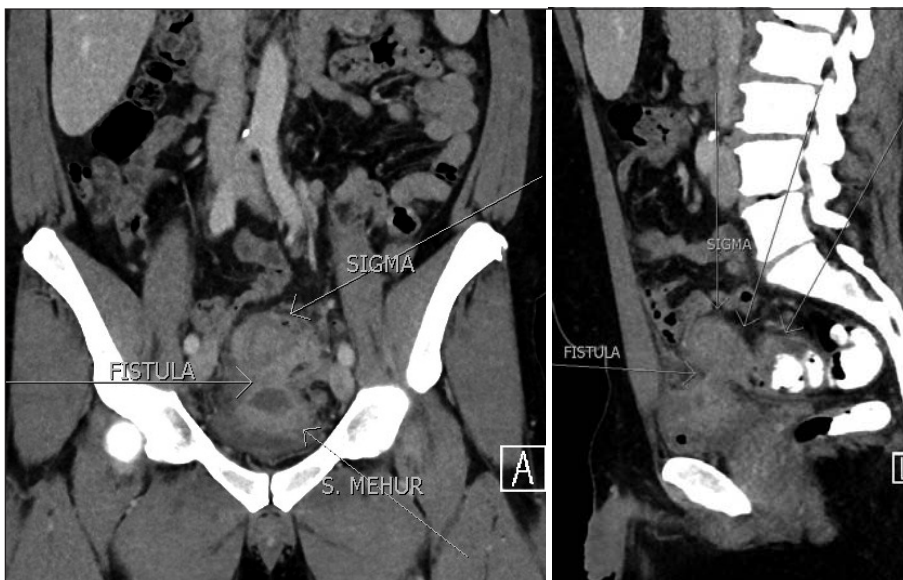
Opravljena je bila irigografija, ki pa ni omogočala razločevanja fistularnega kanala zaradi prekrivanja struktur. CT trebušnih organov s kontrastnim sredstvom je pokazal približno 10 cm dolg odsek sigme z zadebeljeno steno, zoženim lumnom in strukturno spremenjenim maščevjem v okolici (slika 1). Med spremenjenim predelom sigme in svodom sečnega mehurja je bila vidna večja fistula z manjšim abscesom ob njej. Prikazani so bili tudi mehurčki zraka v lumnu sečnega mehurja. Vidni so bili posamezni divertikli levega debelega črevesa, več manjših bezgavk vzdolž spodnjega mezenterialnega žilja in 1 cm velika, nepredeljiva mehkotkivna tvorba v omentumu. Preostali deli prebavne cevi so bili brez posebnosti.

Po konziliarnem pregledu je bilo odrejeno kirurško zdravljenje fistule. Kot zdravljenje sta bila do operativnega posega uvedena ciprofloksacin in metronidazol.

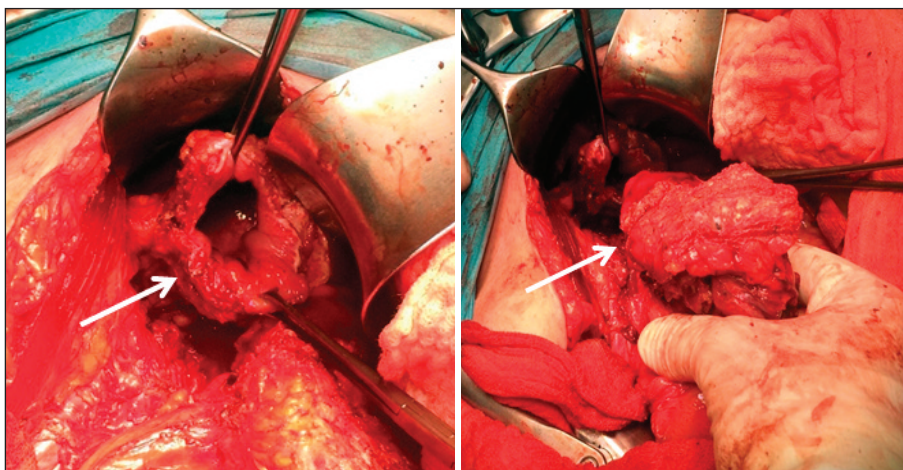
Po ustrezni predoperativni pripravi je bil bolnik operiran. Pri operaciji je sodeloval tudi specialist urolog. Glede na obseg sprememb, vidnih po opravljeni slikovni diagnostiki, je bila izbrana klasična, odprta operacija. Pri operaciji je bil najden močno

bolezensko spremenjen sigmoidni del debelega črevesa, ki je bil čvrsto zaraščan na sprednjo steno sečnega mehurja (slika 2). Od slednjega je bilo črevo ločeno z veliko težavo, steno mehurja pa je bilo treba deloma tudi odstraniti. Makroskopsko same

tvorbe ni bilo možno opredeliti kot benigno ali maligno, zaradi česar je bil oboleli del črevesa odstranjen po onkoloških principih (t. i. odstranitev »en-bloc« z radikularno ligaturo žil za prizadeto področje). Po odstranitvi črevesa je bil mehur prešit s tekočim



**Slika 1.** CT trebuha s kontrastom v koronarni in sagitalni ravnini. Ta je pokazal spremenjeno strukturo sigmoidnega dela debelega črevesa in okolnih struktur ter jasno vidno fistulo med sigmo in svodom sečnega mehurja. S. mehur – sečni mehur.



**Slika 2.** Operativno zdravljenje kolovezikalne fistule. Bolezensko spremenjen sigmoidni del debelega črevesa (označen s puščico), ki je bil zaraščan s sprednjo steno sečnega mehurja.

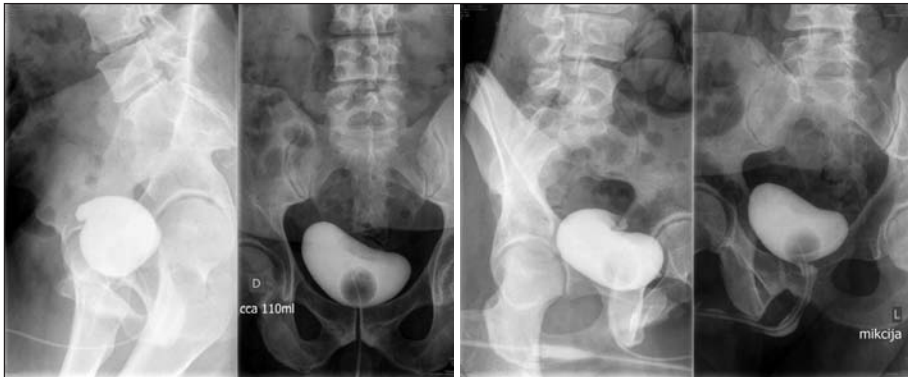
šivom v dveh slojih, ponovno je bila vzpostavljena tudi neprekinjenost prebavne cevi, in sicer s pomočjo krožnega spenjalnika kot descendorektoanastomoza konec s koncem.

Okrevanje bolnika po operaciji je potekalo povsem brez zapletov, tako da je bil sedmi pooperativni dan odpuščen na začasni odpust z vstavljenim stalnim urinskim katetrom. Bolnik se je na oddelek vrnil sedem dni kasneje, ko je bil narejen še kontrolni cistogram (slika 3). Ta je bil brez posebnosti, tako da je bil urinski kateter odstranjen in bolnik odpuščen v domačo oskrbo.

Končni histološki izvid odstranjenega tkiva je pokazal, da gre za gnojni divertikulitis s tvorbo fistule in kroničnim fibroproduktivnim vnetjem, z obilno produkcijo brazgotinskega veziva v perirektalnem maščevju.

## ZAKLJUČEK

Zapleti divertikulitisa bolnika lahko močno ogrožajo in v težjih primerih velikokrat zahtevajo kirurško zdravljenje. Pri opisanem primeru smo se osredotočili na kolovezikalno fistulo, ki je redek zaplet divertikulitisa, vendar jo zaradi njenih patognomoničnih znakov skupaj z ustrežno anamnezo lahko dokaj hitro odkrijemo. Kljub temu pa je v poteku diagnostike pomembno, da kot vzrok za njen nastanek izključimo drugo patologijo, zlasti malignom debelega črevesa. Zdravljenje kolovezikalne fistule je v nekaterih primerih lahko konservativno, vendar je mnogo pogostejši nujni kirurški poseg. Po navadi je potreben klasičen, večstopenjski pristop. V prihodnosti pa bo pri tem po vsej verjetnosti pomembnejše mesto dobila tudi laparoskopija.



**Slika 3.** Cistogram, 14 dni po operaciji. Na cistogramu ni vidnih bolezenskih sprememb na mehurju. Cca – približno (angl. *circa*).

## LITERATURA

1. Feuerstein JD, Falchuk KR. Diverticulosis and diverticulitis. *Mayo Clin Proc.* 2016; 91 (8): 1094–104.
2. Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, et al., eds. *Interna medicina*. 4th ed. Ljubljana: Littera picta; Slovensko medicinsko društvo; 2011.
3. Onur MR, Akpınar E, Karaosmanoglu AD, et al. Diverticulitis: a comprehensive review with usual and unusual complications. *Insights Imaging.* 2017; 8 (1): 19–27.
4. Grosek J, Tomazič A, Ormejc M, et al. Vloga laparoskopije pri obravnavi akutnega divertikulitisa sigme (ADS). *Gastroenterolog.* 2013; 17: 11–5.
5. Barat M, Dohan A, Pautrat K, et al. Acute colonic diverticulitis: an update on clinical classification and management with MDCT correlation. *Abdom Radiol (NY).* 2016; 41 (9): 1842–50.
6. Wilkins T, Embry K, George R. Diagnosis and management of acute diverticulitis. *Am Fam Physician.* 2013; 87 (9): 612–20.
7. Barbieux J, Plumereau F, Hamy A. Current indications for the Hartmann procedure. *J Visc Surg.* 2016; 153 (1): 31–8.
8. Acuna SA, Wood T, Chesney TR, et al. Operative Strategies for perforated diverticulitis: a systematic review and meta-analysis. *Dis Colon Rectum.* 2018; 61 (12): 1442–53.
9. Gentile V, Ferrarese A, Marola S, et al. Perioperative and postoperative outcomes of perforated diverticulitis Hinchey II and III: open Hartmann's procedure vs. laparoscopic lavage and drainage in the elderly. *Int J Surg.* 2014; 12 Suppl 2: S86–9.
10. Melchior S, Cudovic D, Jones J, et al. Diagnosis and surgical management of colovesical fistulas due to sigmoid diverticulitis. *J Urol.* 2009; 182 (3): 978–82.
11. Golabek T, Szymanska A, Szopinski T, et al. Enterovesical fistulae: aetiology, imaging, and management. *Gastroenterol Res Pract.* 2013; 2013: 617967.
12. Strickland M, Burnstein M, Cohen Z. Colovesical fistulas. [internet]. UpToDate, inc.; 2017 [citirano 2019 Jan 2]. Dosegljivo na: <https://www.uptodate.com/contents/colovesical-fistulas>
13. Solkar MH, Forshaw MJ, Sankararajah D, et al. Colovesical fistula—is a surgical approach always justified? *Colorectal Dis.* 2005; 7 (5): 467–71.
14. Bertelson NL, Abcarian H, Kalkbrenner KA, et al. Diverticular colovesical fistula: what should we really be doing? *Tech Coloproctol.* 2018; 22 (1): 31–6.
15. Woods RJ, Lavery IC, Fazio VW, et al. Internal fistulas in diverticular disease. *Dis Colon Rectum.* 1988; 31 (8): 591–6.
16. Menenakos E, Hahnloser D, Nassiopoulou K, et al. Laparoscopic surgery for fistulas that complicate diverticular disease. *Langenbecks Arch Surg.* 2003; 388 (3): 189–93.
17. Ferguson GG, Lee EW, Hunt SR, et al. Management of the bladder during surgical treatment of enterovesical fistulas from benign bowel disease. *J Am Coll Surg.* 2008; 207 (4): 569–72.

Prispelo 9. 4. 2019



# Flebaven®




mikronizirani diosmin  
filmsko obložene tablete, 500 mg  
tablete, 1000 mg

## LAHKOTEN KORAK ZA ZDRAVE VENE

**UKREPAJTE ZDAJ!**

Naj vas bolečine v nogah  
ne ustavijo na vaši poti.  
Preprečite napredovanje  
kronične venske bolezni.

**Flebaven z eno tableto na dan:**

-  olajša bolečine v nogah,
-  zmanjša občutek težkih nog in njihovo otekanje,
-  omogoča cenovno dostopnejše zdravljenje.

[www.flebaven.si](http://www.flebaven.si)



 **KRKA**

Pred uporabo natančno preberite navodilo!  
O tveganju in neželenih učinkih se posvetujte z zdravnikom ali s farmacevtom.



Barbara Krevel<sup>1</sup>, Breda Barbič-Žagar<sup>2</sup>, Nataša Uranič<sup>3</sup>

## Učinkovitost in varnost enega odmerka Flebavena® (diosmin) po 1.000 mg dnevno pri bolnikih s kronično vensko boleznijo

*The Efficacy and Safety of a Daily 1.000 mg Dose of Flebaven® (Diosmin) in Patients with Chronic Venous Disease*

### IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: mikroniziran diosmin, kronična venska bolezen, bolečina v nogah, učinkovitost, varnost

**IZHODIŠČA.** Kronična venska bolezen je pogosta kronična nenalezljiva bolezen, katere prevalenca po vsem svetu znaša več kot 80 %. Kronična venska bolezen je klinično opredeljena kot sklop simptomov in znakov, ki nastanejo zaradi povečanega tlaka v povrhnjih in/ali globokih venah spodnjih udov. Najpogostejši simptomi in znaki so bolečine v nogah, težke in otekle noge. Zdravila s klinično dokazano učinkovitostjo v zdravljenju kronične venske bolezni so flavonoidi, zlasti mikroniziran diosmin. Cilj kliničnega preskušanja je bil potrditi učinkovitost in varnost Flebavena® 1.000 mg ob jemanju enkrat dnevno pri bolnikih s kronično vensko boleznijo. **METODE.** V klinično preskušanje je bilo vključenih 389 bolnikov s primarno kronično vensko boleznijo in bolečino v nogah. Bolniki so zdravnike raziskovalce obiskali trikrat, na začetku zdravljenja (prvi obisk), po 4 tednih (drugi obisk) in po 12 tednih zdravljenja (tretji obisk). Raziskovalci so ocenjevali učinkovitost zdravljenja, tako da so ocenili simptome na numerični lestvici (bolečina v nogah, občutek težkih nog, jakost otekanja nog), resnost bolezni s kliničnim globalnim kazalnikom o resnosti bolezni ter izboljšanje bolezni s kliničnim globalnim kazalnikom o izboljšanju bolezni. Na začetku in koncu kliničnega preskušanja so bolniki z vprašalnikom SF-20 ocenili kakovost življenja. Za spremljanje varnosti so raziskovalci beležili neželene dogodke na obeh kontrolnih obiskih. **REZULTATI.** Pri 52 % bolnikov po 4 tednih zdravljenja ter 85,4 % bolnikov po 12 tednih zdravljenja se je bolečina v nogah zmanjšala za  $\geq 30$  % ali pa ocena bolečine na numerični lestvici ni presežala ocene 3. Dodatno so se po 12 tednih statistično značilno zmanjšali jakost bolečine v nogah, občutek težkih nog in jakost otekanja nog. Rezultati so pokazali, da se je statistično značilno zmanjšala tudi jakost bolezni (z izhodiščne vrednosti 3,326 na 2,350 po 12 tednih zdravljenja;  $p < 0,001$ ). Glede na klinični globalni kazalnik o izboljšanju bolezni se je povprečna ocena zmanjšala z 2,262 po 4 tednih na 1,766 po 12 tednih zdravljenja. Kakovost življenja bolnikov se je na koncu zdravljenja izboljšala, največji pozitivni vpliv pa se je pokazal v zmanjšanju stopnje bolečine. Bolniki so zdravljenje dobro prenašali, saj pri 89 % bolnikov ni bil zabeležen noben neželen učinek, povezan s Flebavenom®. **ZAKLJUČKI.** Klinično preskušanje je potrdilo, da je Flebaven® 1.000 mg ob jemanju enkrat dnevno, učinkovito zdravilo za zdravljenje kronične venske bolezni in da ga bolniki dobro prenašajo.

<sup>1</sup> Barbara Krevel, dr. med., Klinični oddelek za žilne bolezni, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; barbara.krevel@kclj.si

<sup>2</sup> Breda Barbič-Žagar, dr. med., Krka, d. d., Novo mesto, Dunajska cesta 65, 1000 Ljubljana

<sup>3</sup> Nataša Uranič, mag. farm., Krka, d. d., Novo mesto, Dunajska cesta 65, 1000 Ljubljana

## ABSTRACT

KEY WORDS: micronized diosmin, chronic venous disease, leg pain, efficacy, safety

**BACKGROUNDS.** Chronic venous disease is a common chronic non-contagious disease with a global prevalence of more than 80%. The disease is clinically defined as a set of symptoms and signs caused by the increased blood pressure in superficial and/or deep veins of the lower limbs. The most common symptoms and signs include leg pain, sensation of heavy legs, and leg swelling. Flavonoids, in particular micronized diosmin, are medicines with clinically demonstrated efficacy in the treatment of chronic venous disease. The goal of the clinical trial for the medicinal product Flebaven® was to confirm the efficacy and safety of one dose of Flebaven® 1.000 mg per day in patients with chronic venous disease. **METHODS.** The clinical trial included 389 patients with primary chronic venous disease and leg pain. The patients were scheduled for three visits with the doctor-investigators: at the start of treatment (Visit 1), at week 4 of treatment (Visit 2), and at week 12 of treatment (Visit 3). The investigators assessed the efficacy of treatment by evaluating the symptoms (leg pain, feeling of heavy legs, intensity of leg swelling) using the numerical scale, the severity of the disease based on the Clinical Global Impression Scale – Severity, and the improvement of the disease based on the Clinical Global Impression Scale – Improvement. At the start and at the end of the clinical trial, the patients assessed the quality of life using the SF-20 questionnaire. To monitor the safety of the medicinal product, the investigators recorded adverse events at both control visits. **RESULTS.** Leg pain was either reduced by  $\geq 30\%$  or the Numeric Rating Scale score was not higher than 3 in 52% of patients at 4 weeks of treatment and in 85.4% of patients at 12 weeks of treatment. In addition, statistically significant reductions in leg pain intensity, feeling of heavy legs and leg swelling were observed at 12 weeks of treatment. The results have also shown statistically significant reduction in the severity of the disease (from the initial value of 3.326 to 2.350 at week 12 of treatment;  $p < 0.001$ ). The mean Clinical Global Impression Scale – Improvement score decreased from 2.262 after 4 weeks of treatment to 1.766 after 12 weeks of treatment. The patients' quality of life improved at the end of treatment, with the highest positive effect observed in the reduction of pain intensity. The patients tolerated the treatment with Flebaven® well and 89% of them were without adverse effects related to the treatment with Flebaven®. **CONCLUSIONS.** The results of the clinical trial have demonstrated that one dose of Flebaven® 1.000 mg per day is an effective medicine for the treatment of chronic venous disease and is well tolerated in patients.

## IZHODIŠČA

Kronična venska bolezen (KVB) zajema vse stopnje bolezni od telangiektazij, varic in otekanja do kožnih sprememb z razjedo, medtem ko izraz kronično vensko popuščanje (KVP) vključuje napredovale faze s stalnim otekanjem in kožnimi spremembami z razjedo. KVB je klinično opredeljena kot sklop simptomov in znakov, ki nastanejo zaradi povečanega tlaka v povrhnjih in/ali globokih venah spodnjih udov. Simptomi KVB so lahko težke noge, tope bolečine, srbenje, utrujenost nog, krči ponoči in nemirne noge. Znaki KVB so lahko metličaste vene, mrežaste vene ali krčne žile (varice), oteklina in kožne spremembe, kot so temnejša obarvanost (hiperpigmentacija), lipodermatoskleroza, hipostatični dermatitis in venska razjeda (1, 2). KVB je napredujoča bolezen. Če se ne zdravi pravočasno, lahko napreduje v hujšo obliko bolezni (3).

Razvitih je več sistemov za razvrstitev KVB. Najnatančnejša opredelitev KVB je razvrstitev CEAP, ki vključuje klinični (angl. *clinical*, C), etiološki (E), anatomski (A) in patofiziološki (P) vidik bolezni (1, 4). Klinični del razvrstitve temelji na kliničnih znakih KVB in zajema sedem razredov (tabela 1). Če so prisotni simptomi bolezni, se za črko C doda še črka s, če pa je bolezen asimptomatska, se črki C doda a. Etiologija bolezni je lahko prirojena (angl. *congenital*) – Ec,

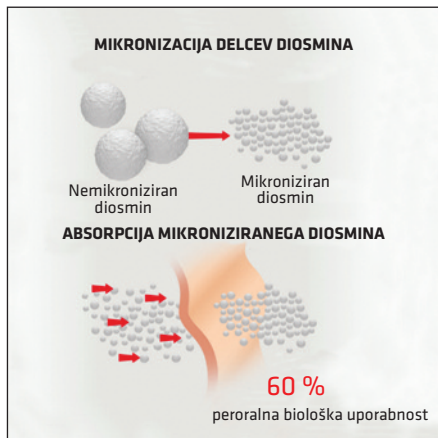
primarna – Ep ali sekundarna – Es. Anatomska razvrstitev se nanaša na mesto bolezenskega procesa; prizadetost povrhnjih, globokih ali prebodnih ven. Patofiziološki vidik razvrstitve obsega: povratni tok (refluks) – Pr, zaporo (obstrukcijo) – Po, ali oboje (Pro).

KVB je izredno pogosta kronična nena-lezljiva bolezen, saj prevalenca po vsem svetu znaša več kot 80%. Več kot 60% bolnikov ima KVB stopnje C1–C6 po CEAP, okrog 20% pa je tistih, ki imajo začetno stopnjo KVB opredeljeno kot C0 po CEAP (5). Zdravila s klinično dokazano učinkovitostjo v zdravljenju KVB so flavonoidi, zlasti mikroniziran diosmin (6). Zdravilno učinkovino mikroniziran diosmin vsebuje tudi zdravilo Flebaven® (7). S postopkom mikronizacije je zmanjšana velikost delcev diosmina, ki ne presega 10 µm, kar pripomore k večji absorpciji učinkovine v prebavilih in posledično višji biološki uporabnosti ter klinični učinkovitosti (slika 1) (8, 9). Peroralna biološka uporabnost mikronizirane-ga diosmina je približno 60% (7).

Mikroniziran diosmin je indiciran pri odraslih za zdravljenje znakov in simptomov KVB, kot so bolečine, občutek težkih nog, utrujene noge, nemirne noge, nočni krči, edemi in trofične spremembe, ter tudi zdravljenje simptomov, povezanih z akutno hemoroidalno boleznijo (7).

**Tabela 1.** Razvrstitev CEAP, ki upošteva klinični, etiološki, anatomski in patofiziološki vidik bolezni. CEAP – klinični, etiološki, anatomski, patofiziološki (angl. *clinical, etiologic, anatomic, pathophysiological*).

Razred	Značilne spremembe
C0	ni vidnih ali tipnih znakov venske bolezni
C1	telangiektazije ali retikularne vene
C2	krčne žile (varice)
C3	oteklina
C4a	akutne kožne spremembe (hiperpigmentacije, dermatitis)
C4b	kronične kožne spremembe (bela atrofija, lipodermatoskleroza)
C5	kožne spremembe, opisane pri razredu štiri, in zacelejena venska razjeda
C6	zgoraj omenjene kožne spremembe in aktivna venska razjeda



**Slika 1.** Shematski prikaz absorpcije mikroniziranega diosmina v črevesju.

Mikroniziran diosmin povečuje tonus ven in tako zmanjšuje kapacitivnost, distenzijo ven in zastajanje krvi. Skrajšan čas praznjenja ven pokaže venska okluzivna živorebna pletizmografija. Deluje tudi na mikrocirkulacijo, ker zmanjšuje prepustnost kapilar in povečuje njihovo odpornost. Ker vpliva na sintezo prostaglandinov, ima tudi protivnetno delovanje. Končni učinek je zmanjšanje venske hipertenzije pri bolnikih z boleznijo ven (7).

Učinkovitost mikroniziranega diosmina je bila preskušena že v nekaterih kliničnih raziskavah. Ziaja in sodelavci so dokazali učinkovitost zdravila pri bolnikih s KVB. V odprto neprimerjalno klinično preskušanje so vključili 6.569 bolnikov, ki jih je spremljalo 330 zdravnikov v primarnem zdravstvu. Izkazalo se je, da mikroniziran diosmin učinkovito zmanjšuje simptome KVB, saj so se pri bolnikih statistično značilno zmanjšali bolečine v nogah, občutek težkih in nemirnih nog, krči v nogah in občutek otekanja. Mikroniziran diosmin je zmanjšal tudi obseg noge v predelu gležnja in meč (10).

Cilj kliničnega preskušanja je bil potrditi učinkovitost in varnost Flebavena® 1.000 mg ob jemanju enkrat dnevno pri bolnikih s KVB.

## METODE

Prospektivno, odprto, multicentrično intervencijsko klinično preskušanje je potekalo v Sloveniji od junija 2018 do julija 2019. Vključeni so bili bolniki z diagnozo primarne KVB, stari 20–70 let, pri katerih je bila povprečna jakost bolečine v nogah štiri ali več na numerični lestvici (NL), kar je ustrezalo zmerni oz. močni bolečini, ter so bili po CEAP na najbolj prizadeti nogi razvrščeni v klinični razred C0s–C4s. Bolniki v klinično preskušanje niso bili vključeni, če so bili preobčutljivi za zdravilno učinkovino ali katero koli pomožno snov, če so bili po CEAP na bolj prizadeti nogi razvrščeni v klinični razred C5s–C6s, če so se sočasno nefarmakološko zdravili (skleroterapija, kirurško zdravljenje varikoznih ven, angioplastika, endovaskularna naprava) oz. so se nefarmakološko zdravili do treh mesecev pred vključitvijo. Prav tako niso bili vključeni bolniki z limfedemom spodnjih okončin, ledvično odpovedjo ali dekompenziranim srčnim popuščanjem, jetrno odpovedjo, anamnezo odstranitve dela gastrointestinalne poti, nezadostne prehrane, malabsorpcije, aktivne venske tromboze in s pomembno kronično globoko vensko zaporo, ki bi lahko vodila do venske klavdikacije in pomembnega kompresijskega zdravljenja, s hudo vnetno boleznijo ali drugim vzrokom bolečine v spodnjih okončinah. Iz preskušanja so bili izzeti tudi bolniki, ki so se sočasno zdravili s protivnetnimi zdravili (razen z acetilsalicilno kislino v antiagregacijskem odmerku manj kot 350 mg dnevno), sistemskimi kortikosteroidi, imunosupresivnimi zdravili in venoaktivnimi zdravili, bolniki, ki so se sočasno zdravili z opiaty, uvedenimi ali spremenjenimi v mesecu pred vključitvijo, ter nosečnice, doječe matere ali ženske, ki so nedavno rodile (šest mesecev ali manj pred vključitvijo).

Bolnikom, ki so podpisali Izjavo o zavestni in svobodni privolitvi v sodelovanje v kliničnem preskušanju in so ustrezali vključitvenim pogojem, je bilo dodeljeno

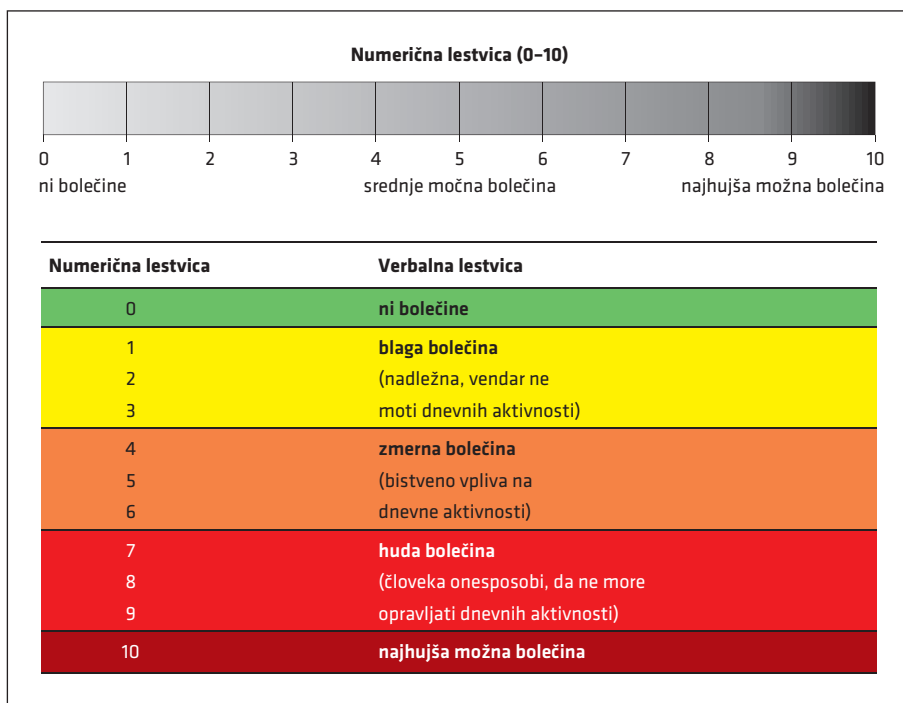
12-tedensko zdravljenje s Flebavenom®. Bolniki so vzeli eno tableto zdravila Flebaven® 1.000 mg dnevno, med obrokom, kadar koli v dnevu, vendar vedno ob istem času ( $\pm 3$  ure).

Bolniki so zdravnike raziskovalce obiskali trikrat, na začetku zdravljenja (prvi obisk) in na dveh kontrolnih obiskih, po 4 tednih zdravljenja (drugi obisk) in po 12 tednih zdravljenja (tretji obisk). Na prvem obisku so zdravniki preverili izpolnjevanje vključitvenih in izključitvenih meril, in sicer z jemanjem splošne zdravstvene anamneze, ocene jakosti bolečine v nogah na NL (tabela 2) in kliničnega razreda po CEAP (tabela 1).

Na kontrolnih obiskih so raziskovalci ocenjevali učinkovitost zdravljenja tako, da so ocenili simptome KVB (bolečina v nogah, občutek težkih nog, jakost otekanja nog) na NL, resnost boleznih na lestvici 1–7 (1 – ni

bolan, 7 – zelo hudo bolan) s kliničnim globalnim kazalnikom o resnosti boleznih (angl. *Clinical Global Impression – Severity scale*, CGI-S) ter izboljšanje boleznih na lestvici 1–7 (1 – izrazito izboljšanje, 7 – izrazito poslabšanje boleznih) s kliničnim globalnim kazalnikom o izboljšanju boleznih (angl. *Clinical Global Impression – Improvement scale*, CGI-I). Na začetku in koncu kliničnega preskušanja so bolniki z vprašalnikom SF-20 (vprašalnik o z zdravjem povezani kakovosti življenja z 20 postavkami iz kliničnega preskušanja ustanove RAND (Research and Development) o izidih zdravljenja) ocenili kakovost življenja.

Za oceno varnostnega profila so neželeno učinke zdravila (NUZ) spremljali ves čas kliničnega preskušanja, na drugem in tretjem obisku pa je bila varnost preskušane zdravila (PZ) ocenjena tudi na podlagi podatkov, pridobljenih v pogovoru z bolnikom.



**Tabela 2.** Prikaz numerične lestvice za oceno enega izmed simptomov kronične venske boleznih – bolečine v nogah.

Ocenjeni in analizirani opazovani varnostni dogodki so bili skupna pogostost NUZ ter pogostost NUZ glede na njihovo vrsto in število ali odstotek bolnikov, ki zaradi NUZ niso končali zdravljenja. Vse neželene dogodke so razvrstili glede na povezanost z zdravilom, jakost, resnost, čas do začetka pojava, pogostost, potrebo po zdravljenju in pričakovanost.

Primarni cilj kliničnega preskušanja je bil določiti delež bolnikov, pri katerih se je bolečina v nogah zmanjšala za  $\geq 30\%$  (ocenjeno na NL – tabela 2), ali odstotek bolnikov, pri katerih ocena bolečine na NL ni presežala ocene 3 (časovni okvir: izhodišče, po 4 tednih, po 12 tednih).

Sekundarni cilji kliničnega preskušanja so bili razlika v jakosti bolečine v nogah, v občutku težkih nog ter otekanja nog (ocenjeno na NL) od začetka do konca kliničnega preskušanja (časovni okvir: izhodišče, po 4 tednih, po 12 tednih), razlika v kakovosti življenja (ocenjeno s SF-20) od začetka do konca kliničnega preskušanja (časovni okvir: izhodišče, po 12 tednih), razlika v jakosti bolezni (ocenjeno s CGI-S) od začetka do konca kliničnega preskušanja (časovni okvir: izhodišče, po 4 tednih, po 12 tednih) ter

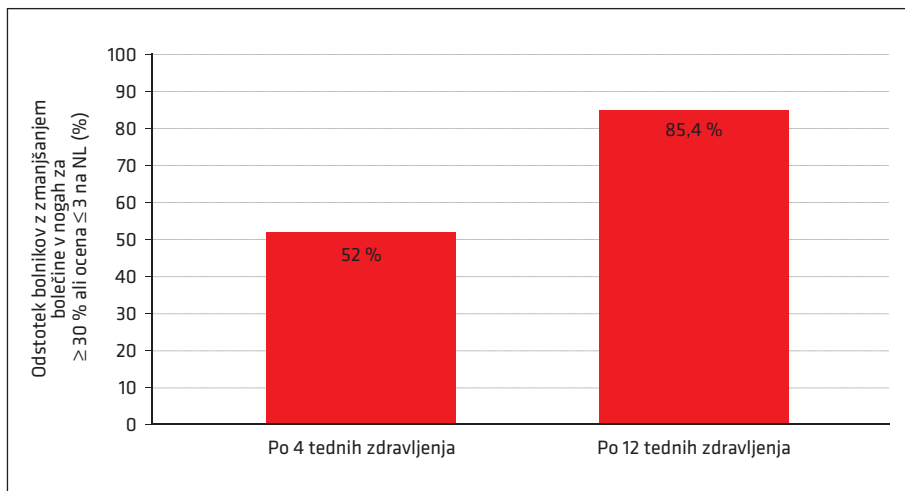
razlika v izboljšanju bolezni (ocenjeno s CGI-I) od začetka do konca kliničnega preskušanja (časovni okvir: po 4 tednih, po 12 tednih). V podskupini 25 bolnikov z vidnimi znaki KVB (krčne žile, oteklina) so raziskovalci fotografsko dokumentirali spremembe na začetku kliničnega preskušanja in po 12 tednih zdravljenja.

## REZULTATI

V klinično preskušanje je bilo vključenih 389 bolnikov, 72 moških (18,5%) in 317 žensk (81,5%). Povprečna starost bolnikov je bila 56,3 leta (prvi kvartil 50; tretji kvartil 65). Glede na klasifikacijo CEAP sta bila najpogosteje zastopana razreda C2s (36%) in C3s (30,8%). Po zahtevah načrta preskušanja je to zajemalo CEAP-razrede C0s–C4s. Predhodno zdravljenje KVB je prejelo 8,2% bolnikov.

## Učinkovitost

Delež bolnikov, ki so izpolnili osnovni cilj (delež bolnikov, pri katerih se je bolečina v nogah zmanjšala za  $\geq 30\%$  ali bolečina ni presežala ocene 3 na NL) po 4 tednih zdravljenja glede na izhodišče, je znašal 52%, po 12 tednih zdravljenja glede na izhodišče pa 85,4% (slika 2).

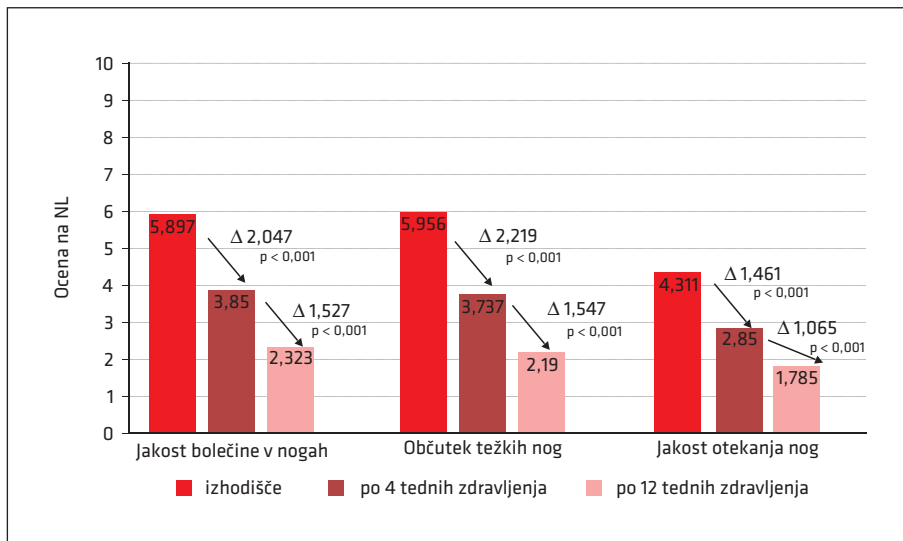


**Slika 2.** Delež bolnikov z doseženim primarnim ciljem po 4 in 12 tednih zdravljenja glede na izhodišče. NL – numerična lestvica.

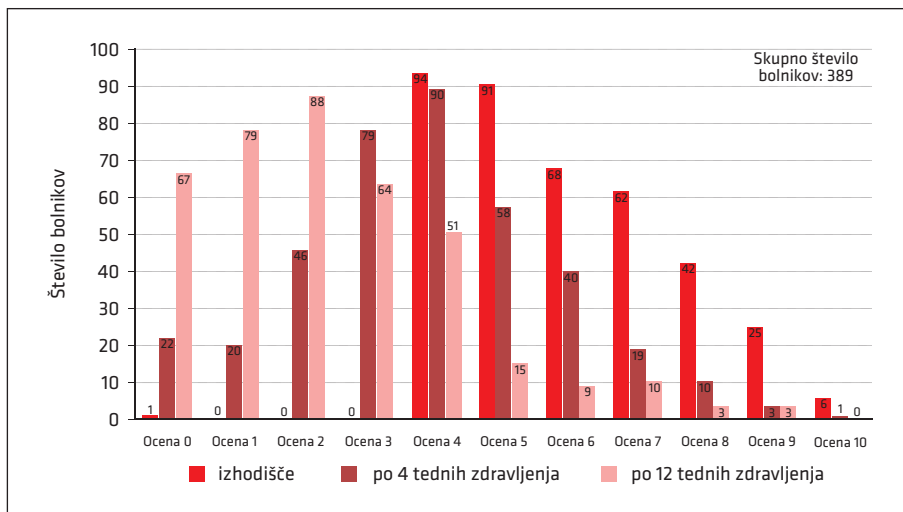
Jakost bolečine v nogah, občutek težkih nog in otekanje nog (ocenjeno na NL) so se statistično značilno zmanjšali po 4 in 12 tednih zdravljenja ( $p < 0,001$ ), kar je prikazano na sliki 3.

Jakost bolečine v nogah je bila na začetku ocenjena na 5,897. Po 4 tednih zdrav-

ljenja je bila ocena jakosti bolečine v nogah 3,850, po 12 tednih zdravljenja pa 2,323. Po 4 tednih zdravljenja je bilo brez bolečin ali z blago bolečino (ocene 0–3 na NL) v nogah 167 (42,9 %) bolnikov, po 12 tednih zdravljenja pa 298 (76,4 %) bolnikov (slika 4).



**Slika 3.** Zmanjšanje ocene jakosti simptomov (bolečina v nogah, občutek težkih nog ter otekanje nog) kronične venske bolezni. NL – numerična lestvica.



**Slika 4.** Število bolnikov z različnimi ocenami jakosti bolečine po posameznih obiskih.



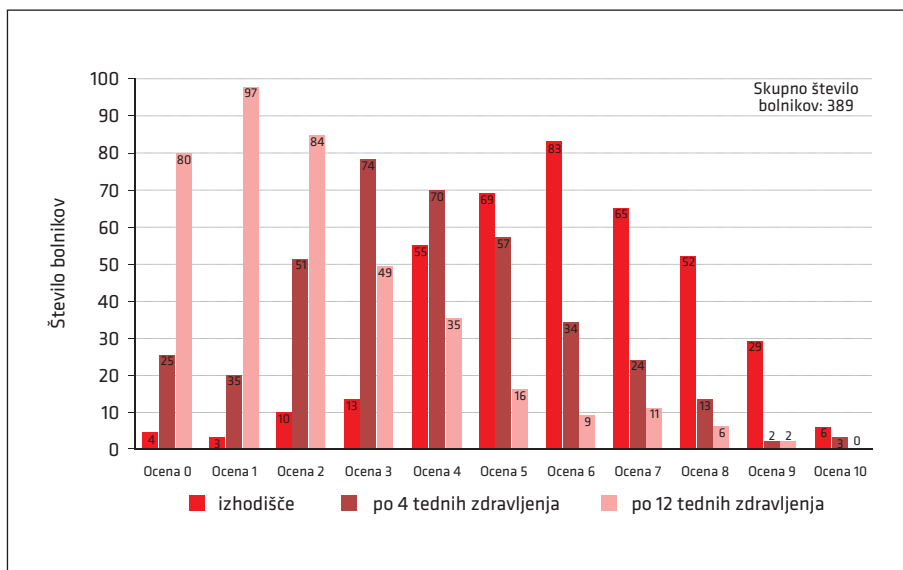
Občutek težkih nog je bil na prvem obisku ocenjen na 5,956. Po 4 tednih zdravljenja je bila ocena občutka težkih nog 3,737 in po 12 tednih zdravljenja 2,190. Porazdelitev ocen po NL (0–10) pokaže, da se je po 4 in 12 tednih zdravljenja v primerjavi z izhodiščem povečal delež ocen 0–3 (te označujejo blag občutek težkih nog) in zmanjšal delež ocen, večjih od 4, kar pomeni, da se je znižal delež bolnikov z zmernim ali hudim občutkom težkih nog. Po 4 tednih zdravljenja je bilo brez občutka težkih nog ali z blagim občutkom težkih nog (ocene 1–3 na NL) 185 (47,5 %) bolnikov, po 12 tednih zdravljenja pa 310 (79,6 %) bolnikov (slika 5).

Jakost otekanja nog je bila na prvem obisku ocenjena na 4,311. Po 4 tednih zdravljenja je bila ocena 2,850 in po 12 tednih zdravljenja 1,785. Po 4 tednih zdravljenja je bilo brez otekanja nog ali z blago oteklinono nog (ocena 1–3 na NL) 260 (67 %) bolnikov, po 12 tednih zdravljenja pa 326 (84 %) bolnikov (slika 6).

Na začetku in koncu kliničnega preskušanja so bolniki z vprašalnikom SF-20 oce-

nili tudi kakovost življenja. Pri vseh kazalnikih kakovosti življenja (fizično delovanje, sposobnost opravljanja dela, družbeno delovanje, duševno zdravje, sedanje doje-manje zdravja, bolečina) je prišlo po 12 tednih zdravljenja do statistično značilnega izboljšanja v primerjavi z izhodiščem ( $p < 0,001$ ). Ocene šestih kazalnikov so v intervalu 0–100 %, pri čemer je 100 % najboljša možna, 0 % pa najslabša možna ocena (slika 7).

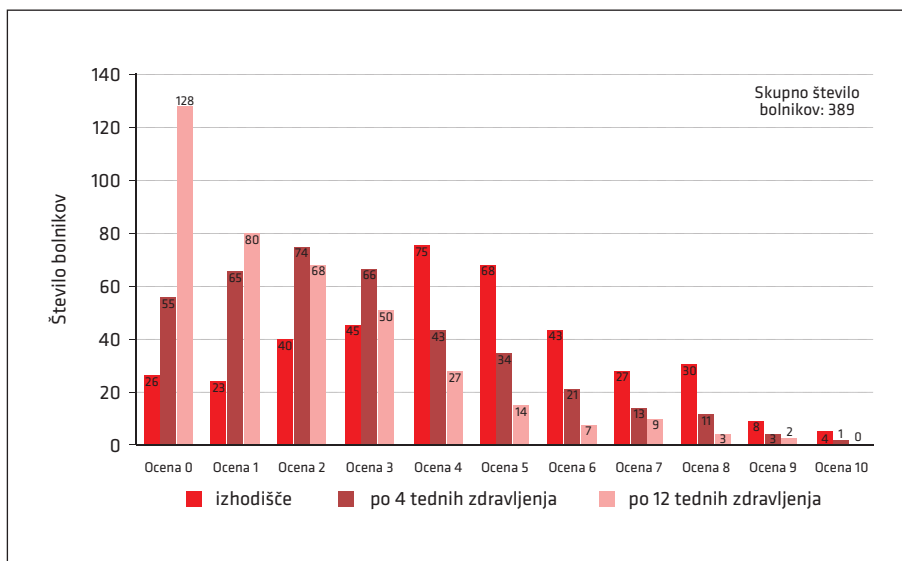
Zdravljenje s Flebavenom® je imelo največji pozitiven vpliv v zmanjšanju stopnje bolečine. Ocena se je povečala za 21,4 odstotnih točk (interval zaupanja = 19,1–23,7;  $p < 0,001$ ), s 45,7 % (interval zaupanja = 43,6–47,7 %) na 67,1 % (interval zaupanja = 64,9–69,2 %). Višja ocena namreč pomeni, da so bolniki občutili manjšo bolečino oz. da je bolečina manj vplivala na kakovost življenja. Skupno se je kakovost življenja po 12 tednih zdravljenja v primerjavi z izhodiščem povečala za 11,8 odstotnih točk (interval zaupanja = 10,3–13,2;  $p < 0,001$ ), s 60,7 % (interval zaupanja = 58,8–62,6 %) na 73 % (interval zaupanja = 71,2–74,8 %).



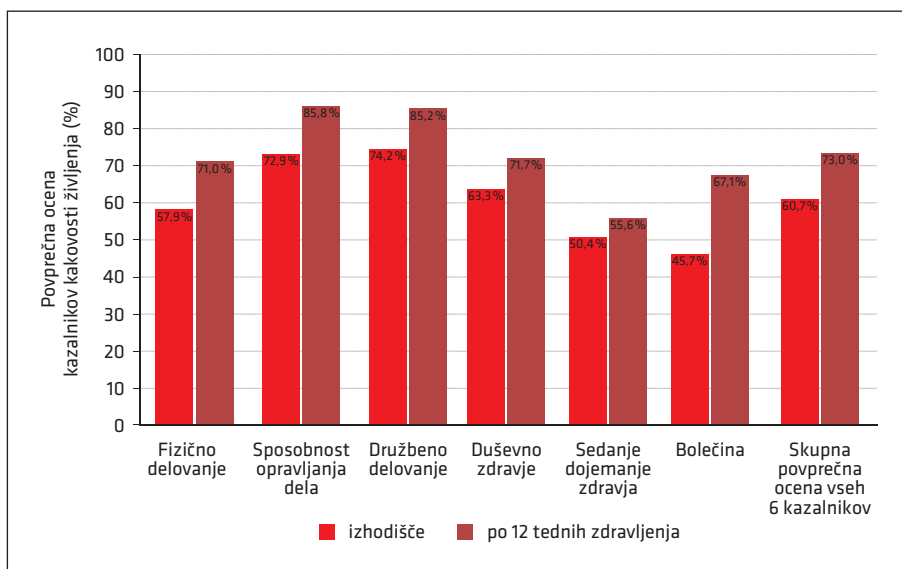
**Slika 5.** Število bolnikov z različnimi ocenami občutka težkih nog po posameznih obiskih.

Raziskovalci so spremljali tudi razliko v jakosti boleznih (ocenjeno s CGI-S) od začetka do konca kliničnega preskušanja. Jakost boleznih se je statistično značilno zmanjšala tako po 4 kot tudi po 12 tednih

zdravljenja v primerjavi z izhodiščem ( $p < 0,001$ ). Jakost boleznih se je izhodiščne vrednosti 3,326 po 4 tednih zdravljenja zmanjšala na 2,784 in po 12 tednih zdravljenja na 2,350.



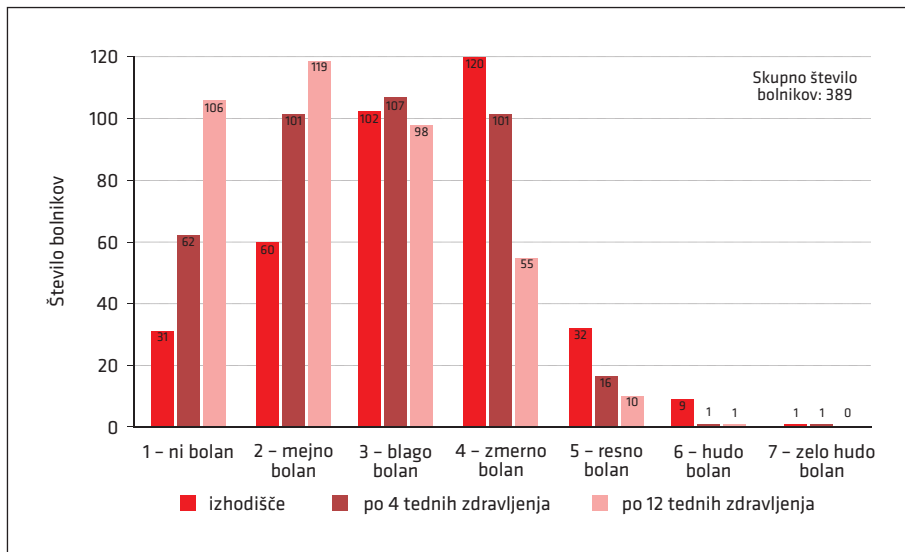
**Slika 6.** Število bolnikov z različnimi ocenami jakosti otekanja nog po posameznih obiskih.



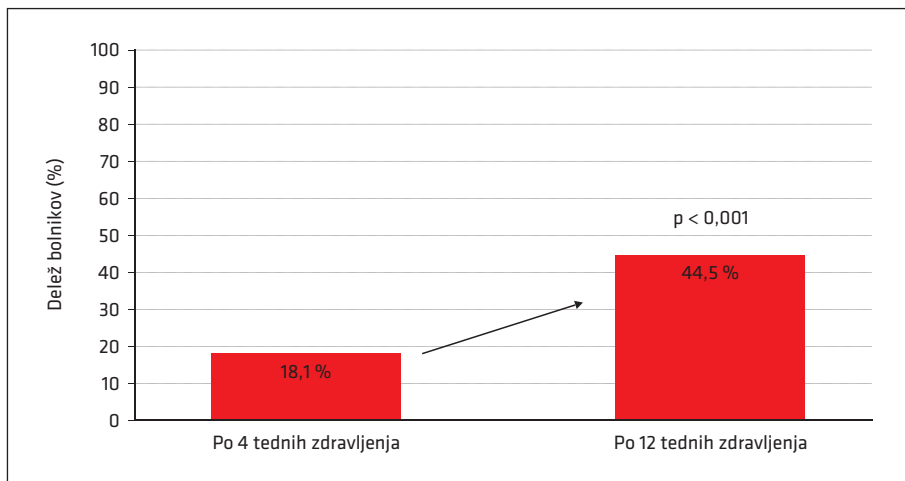
**Slika 7.** Prikaz povprečne ocene kazalnikov kakovosti življenja na izhodišču in po 12 tednih zdravljenja.

Razlika med oceno jakosti bolezni med zdravljenjem na podlagi CGI-S po 12 tednih, v primerjavi z izhodiščno oceno, je najbolj izrazita pri odgovoru »ni bolan«. Delež pri tem odgovoru se je povečal z 8 % (31 bolnikov) na izhodišču na 27,1 % (106 bolnikov) po 12 tednih zdravljenja (slika 8). Razlika je statistično značilna ( $p < 0,001$ ).

Raziskovalci so ocenjevali tudi razliko v izboljšanju bolezni (ocenjeno s CGI-I) po 4 tednih in po 12 tednih. Povprečna ocena po CGI-I se je statistično značilno zmanjšala med 4. in 12. tednom zdravljenja ( $p < 0,001$ ). Nižja povprečna ocena pomeni večje izboljšanje bolezni. Povprečna ocena po CGI-I se je po 4 tednih zdravljenja z 2,262 zmanjšala



**Slika 8.** Porazdelitev ocen jakosti. CGI-S – klinični globalni kazalnik o resnosti bolezni (angl. *Clinical Global Impression – Severity scale*).



**Slika 9.** Delež bolnikov z odgovorom »izrazito izboljšanje bolezni« med zdravljenjem.

na 1,766 po 12 tednih zdravljenja. Izrazita razlika med oceno spremembe bolnikovega stanja med zdravljenjem po 12 tednih, v primerjavi z oceno po 4 tednih, je predvsem pri povečanju odgovora »izrazito izboljšanje bolezní«, ki se je povečal z 18,1 % na 44,5 % vseh navedb (slika 9). Razlika je statistično značilna ( $p < 0,001$ ).

## Varnost

Varnost zdravljenja so ocenjevali pri vseh 389 bolnikih. Bolniki so Flebaven® dobro prenašali, saj pri 346 (89 %) bolnikih ni bil zabeležen noben NUZ, značilno povezan z zdravljenjem s PZ. Neželeni dogodki so bili zabeleženi pri 44 (11,3 %) bolnikih, pri enem je bil zabeležen neželeni dogodek, ki ni bil povezan z zdravljenjem s PZ, 43 (11 %) bolnikov je imelo 71 NUZ. 54 NUZ je bilo zabeleženih na drugem obisku po 4 tednih zdravljenja. Večinoma so bili blagi (61,1 %) in so minili do tretjega obiska. Po 12 tednih zdravljenja je bilo zabeleženih le še 23 NUZ. Bolniki so navajali predvsem gastrointestinalne težave, redkeje pa kožne spremembe, nevrološke (glavobol, nespečnost, občutek nemirnih nog) in splošne simptome (slabo počutje).

## RAZPRAVA

KVB je pogosta kronična nenalezljiva bolezen, katere najpogostejši simptomi in znaki so bolečine v nogah, težke in otekle noge. Klinično preskušanje je potrdilo, da je Flebaven® 1.000 mg, ob jemanju enkrat dnevno, učinkovito zdravilo za zdravljenje KVB, saj so se simptomi in znaki bolezní (bolečina v nogah, občutek težkih nog in otekanje nog) statistično značilno zmanjšali tako po 4 kot tudi po 12 tednih zdravljenja. Glede na to, da je bil učinek zdravljenja na zmanjšanje bolečine in otekline nog ter občutka težkih nog po 12 tednih zdravljenja pomembno večji kot po 4 tednih, je zdravljenje smiselno ustrezno podaljšati, pred-

vsem pri bolnikih z izrazitejšimi simptomi in znaki KVB. Na koncu zdravljenja so bolniki ocenili tudi, da se je njihova kakovost življenja bistveno izboljšala, največji pozitivni vpliv pa se je pokazal v zmanjšanju stopnje bolečine. Raziskovalci so potrdili tudi statistično značilno izboljšanje bolezní po 4 in 12 tednih zdravljenja v primerjavi z izhodiščem.

Bolniki so zdravljenje dobro prenašali, saj pri 89 % bolnikov ni bil zabeležen noben NUZ, povezan s Flebavenom®. Podobno pojavnost NUZ, med katerimi so bolniki najpogosteje navajali gastrointestinalne in nevrološke težave (npr. glavoboli, vrtoglavica, utrujenost, nespečnost), so ugotavljali tudi v drugih raziskavah (11).

Izsledki ocene učinkovitosti zdravljenja z mikroniziranim diosminom so skladni z ugotovitvami dosedanjih raziskav o njegovih pozitivnih učinkih na simptome in znake KVB. Zadnja Cochranova metaanaliza o učinkovitosti flebotonikov iz leta 2016 je nakazala njihov ugoden vpliv na zmanjšanje oteklín, pojavljanje krčev ter občutek nemirnih nog in mravljinčenja (12). Najnovejša priporočila za obravnavo KVB spodnjih okončin iz leta 2018 pa izpostavljajo pomen zdravljenja simptomatskih bolnikov z venoaktivnimi zdravili, ki je lahko samostojno ali v kombinaciji z drugimi oblikami zdravljenja, predvsem kompresijskim zdravljenjem, pri bolj napredovelih stopnjah venske bolezní pa tudi z invazivnimi metodami zdravljenja (3).

## ZAKLJUČEK

Klinično preskušanje je prvo tovrstno preskušanje v slovenskem prostoru, ki omogoča vpogled v učinkovitost zdravljenja te izjemno razširjene bolezní z zdravilom Flebaven®. S kliničnim preskušanjem smo potrdili učinkovitost in varnost Flebavena® 1.000 mg ob jemanju enkrat dnevno pri bolnikih s KVB.

## LITERATURA

1. Kecelj Leskovec N, Kozak M, Slana A, et al. Priporočila za odkrivanje in zdravljenje kronične venske bolezni. *Zdrav Vestn.* 2017; 86: 345–61.
2. Ramelet AA, Perrin M, Kern P, et al. *Phlebology*. 5th ed. Paris: Elsevier; 2008.
3. Nicolaides A, Kakkos S, Baekgaard N, et al. Management of chronic venous disorders of the lower limbs. Guidelines According to Scientific Evidence. Part I. *Int Angiol.* 2018; 37 (3): 181–254.
4. Porter JM, Moneta G, International Consensus Committee on Chronic Venous Disease. Reporting standards in venous disease. *J Vasc Surg.* 1995; 21 (4): 635–45.
5. Rabe E, Gueix JJ, Puskas A, et al. Epidemiology of chronic venous disorders in geographically diverse populations: Results from the Vein Consult Program. *Int Angiol* 2012; 31 (2): 105–15.
6. Šikovec A, Planinšek-Ručigaj T, Košiček M, et al. Smernice za odkrivanje in zdravljenje kroničnega venskega popuščanja. *Zdrav Vestn.* 2005; 74: 193–202.
7. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Flebaven® [internet]. KRKA, tovarna zdravil, d. d., Novo mesto; 2019 [citirano 2020 Feb 15]. Dosegljivo na: <https://www.krka.biz/sl/zdravila-in-izdelki/izdelki-brez-recepta/flebaven-1000-mg-filmsko-oblozene-tablete/12814/>
8. Kumar S, Singh P. Various techniques for solubility enhancement: An overview. *The Pharma Innovation Journal* 2016; 5 (1): 23–8.
9. Chaumeil JC. Micronization: A method of improving the bioavailability of poorly soluble drugs. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1998; 20 (3): 211–5.
10. Ziaja D, Chudek J, Maruszynski M, et al. Effectiveness of using micronised diosmin in the treatment of chronic venous insufficiency in the Polish population. *Chirurgia Polska.* 2012; 14 (1): 14–23.
11. Meyer O. Safety of use of daflon 500 mg confirmed by acquired experience and new research. *Phlebology.* 1992; 7 Suppl 2: 64–8.
12. Martinez-Zapata MJ, Vernooij RW, Uriona Tuma SM, et al. Phlebotonics for venous insufficiency. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; 4: CD003229.

Prispelo 14. 2. 2020

Tilen Kristanc<sup>1</sup>

## Mlad izgorel poslovnež

*V ambulantno internistične prve pomoči je prišel 25-letni gospod z bolečinami v trebuhu, bruhanjem, vrtoglavico, težkim dihanjem in malo povišano telesno temperaturo. Težave so se začele en dan pred prihodom v ambulantno. Zadnjega pol leta se je slabo počutil, občutil je napade vročine z razbijanjem srca. V službi, ki je zelo naporna, je bil razdražljiv in občasno brez volje. Izgubil je kar nekaj kilogramov telesne teže, čeprav je imel dober tek in je količinsko jedel več kot pred nastopom težav. Zadnjih 14 dni je postal čezmerno žejen. Popil je več kot 5 litrov tekočine na dan, vendar je odvajal tudi veliko seča, tudi ponoči, kar je bilo zelo moteče. Ob telesnem pregledu je videti shujšan, bleđ, ima hladno znojno kožo, slabega turgorja, krvni tlak = 100/65 mmHg. V izdihanem zraku je prisoten rezek vonj, frekvenca dihanja je nizka, vendar dihanje globoko. Tipen gomolj v levem lobusu ščitnice. Je tudi tahikarden.*

### Vprašanja

1. Kakšna bi bila vaša delovna diagnoza?
2. Kateri znaki in simptomi so v skladu z delovno diagnozo?
3. Ali vse podatke iz anamneze lahko pojasnimo le z eno diagnozo? Kateri so podatki, ki od delovne diagnoze odstopajo, in s kakšno diagnozo bi jih lahko pojasnili?
4. Katere bolezni bi lahko diferencialnodiagnostično povzročale takšno klinično sliko?
5. Kako bi diagnosticirali bolezen?
6. Kako bi se lotili zdravljenja?

Odgovore na vprašanja najdete na naslednji strani.

---

<sup>1</sup> Tilen Kristanc, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; tilen.kristanc@gmail.com

## Odgovori

1. Diabetična ketoacidoza. Gre za eno izmed urgentnih stanj v medicini, zaradi katerega moramo bolnika obvezno sprejeti na intenzivni bolniški oddelek, dokler se njegovo stanje ne izboljša. Diabetična ketoacidoza je akutni zaplet sladkorne bolezni tipa 1, katere temeljni etiopatogenetski mehanizem je absolutno pomanjkanje presnovnega hormona inzulina. Ob odsotnosti inzulina periferna tkiva ne privzemajo glukoze, hkrati pa se v jetrih poveča sinteza glukoze v procesu glukoneogeneze. Posledično je bolnik v hiperglikemičnem stanju, a zaradi pomanjkanja delovanja inzulina telo začne uporabljati mehanizme, ki so prisotni v času stradanja. Eden izmed teh je proces ketogeneze in je odgovoren za produkcijo ketonov, ki imajo nizek pKa in so zaradi tega odgovorni za nastop metabolne acidoze (1, 2).
2. Bolnik navaja, da je v zadnjih 14 dnevih na dan popil več kot 5 litrov tekočine zaradi prekomerne žeje – polidipsije. Poleg tega pa izvemo, da se tekočina ni zadrževala v njegovem telesu, saj je odvajal večje količine seča – poliurija. Simptoma sta povezana in sta posledica hiperosmolarnega stanja. Koncentracija glukoze v krvi in posledično koncentracija glukoze v primarnem seču presegega zmožnost ledvic, da vse molekule glukoze, ki se filtrirajo, reabsorbirajo. Zato se v takem stanju iz telesa izloči več vode kot pri zdravem posamezniku, saj so molekule glukoze osmotsko aktivne in prispevajo k osmotskem gradientu, ki vpliva na to, koliko vode se z ledvicami izloči. Naslednji znak, ki potrjuje verjetnost naše delovne diagnoze in je zanjo zelo značilen, je rezek vonj v izdihanem zraku. Za ta znak pogosto uporabljamo izraz acetonski zadah. Do tega pride zaradi visoke koncentracije ketonov v krvi. Ti se tvorijo v jetrih v procesu ketogeneze. Ta proces pretvarja proste maščobne kisline, ki se iz maščobnih zalog v telesu sproščajo zaradi pomanjkanja inzulina, v ketonska telesa (acetoacetat,  $\beta$ -hidroksibutirat in aceton). Prisotnost bolečine v trebuhu, slabost in bruhanje so prav tako simptomi, značilni za diabetično ketoacidozo, do katerih pride zaradi acidoze (1, 2).
3. Vročinski napadi z razbijanjem srca in tipen gomolj v levem lobusu ščitnice nista značilna za sklop naše delovne diagnoze. Podatka nas usmerita v to, da ima bolnik težave tudi s ščitnico. V sklop simptomov, ki jih ima bolnik zaradi ščitnice, bi lahko šteli tudi to, da je v obdobju šestih mesecev izgubil nekaj kilogramov telesne teže, in sicer kljub povečanemu vnosu hrane in dobremu apetitu. Simptom hujšanja bi ob pomanjkanju prvih dveh lahko pripisali sladkorni bolezni tipa 1, katere akutno poslabšanje je bolnika pripeljalo v ambulantno internistične prve pomoči. Ščitnične težave lahko pojasnimo z diagnozo hipertiroze. Zdravljenje hipertiroze je zelo odvisno od bolezni, ki jo povzroča, zato je nadaljnja diagnostika nujna (3, 4). Vzrokov za hipertirozo je precej, a so pri našem bolniku nekateri vzroki bolj verjetni od drugih. Bolnik ima sladkorno bolezen tipa 1, ki je etiološko avtoimunska bolezen, posamezniki z eno avtoimunsko boleznijo pa pogosto obolevajo še za drugimi. Avtoimunsko obolenje ščitnice se pojavlja pri 17–30 % bolnikov, ki imajo sladkorno bolezen tipa 1 (5). Bolezni, ki sta po etiologiji avtoimunske in lahko povzročata hipertirozo, sta basedovka (Gravesova bolezen) in Hashimotov tiroiditis. Slednja je bolj poznana kot eden izmed najpogostejših vzrokov hipotiroze, a se v začetnem obdobju lahko kaže s hipertirozo, ki pa v obdobju 3–24 mesecev izzveni in prehaja v obdobje hipotiroze. Hipertiroza pri Hashimotovem tiroiditisu za razliko od basedovke ni povzročena zaradi stimulacije ščitnice, temveč zaradi uničenja foliklov in posledičnega sproščanja skladiščenih ščitničnih hormonov (3, 4).



4. Diabetična ketoacidoza ima zelo značilno simptomatiko, ki jo težko pripišemo drugim stanjem. Če zelo izstopajo simptomi trebušne bolečine in bruhanja, moramo pomisliti tudi na diagnozo akutnega abdomna (vzročno gre tu za vnetje žolčnika, vnetje slepiča idr.) (1).

Vzroke za hipertirozo lahko razdelimo v štiri skupine. Vzrok je lahko prekomerno spodbujanje žleze, tkivo, ki se ne odziva na uravnavne mehanizme, prekomerno izplavljanje shranjenih hormonov zaradi strukturne prizadetosti ali pa zunanji dejavniki. Pri prvem bi lahko šlo za adenom hipofize, ki prekomerno sprošča ščitnico stimulirajoči hormon (angl. *thyroid-stimulating hormone*, TSH). Lahko je prisotno avtonomno tkivo, ki neodvisno od regulacijskih hormonov izdeluje ščitnične hormone. Ključni za postavitev diagnoze so poleg anamneze in statusa še ultrazvočna ocena ščitnice, scintigrafija in laboratorijske preiskave ščitničnih hormonov ter protiteles (3).

5. Laboratorijska testa, ki pomagata pri postavitvi diagnoze diabetične ketoacidoze, sta meritev glukoze v krvi in plinska analiza arterijske krvi. Prva bo pokazala povišane vrednosti, ki pa bodo pogosto nižje od 30 mmol/l, pri drugi pa bomo zaznali znižan pH, znižane vrednosti bikarbonata in povečano anionsko vrzel (na račun negativno nabitih ketonov v krvi). Pomagamo si lahko tudi s testiranjem seča na prisotnost ketonskih teles (1).

Tudi ščitnične težave pri našem bolniku lahko najlažje opredelimo na podlagi laboratorijskih meritev TSH, tiroksina ( $T_4$ ) in trijodtironina ( $T_3$ ). Pri hipertirozi bo TSH znižan, ščitnična hormona  $T_4$  in  $T_3$  pa bosta povišana. Pri nadaljnji diagnostiki izmerimo prisotnost ščitničnih avtoprotiteles v krvi. Ta so tri: proti ščitnični peroksidazi (angl. *anti-thyroid peroxidase*, antiTPO), proti tiroglobulinu (antiTg) in proti receptorju za TSH (antiTSH-R). Odločilno za razlikovanje med basedovko in Hashimotovim tiroiditisom je avtoprotitelo antiTSH-R, ki je pri prvi bolezni prisotno, pri drugi pa odsotno (3, 4, 5).

6. Hipertiroze v sklopu Hashimotovega tiroiditisa ne zdravimo, saj je simptomatika pogosto blaga in v roku 24 mesecev izzveni. Bolnikovemu stanju pa moramo slediti, saj ob nastopu hipotirotične faze začnemo z uvajanjem levotiroksina. Začnemo z odmerkom 25  $\mu$ g ali 50  $\mu$ g, ki ga po dveh tednih povišamo za 25–50  $\mu$ g. Nato odmerek prilagajamo koncentraciji TSH. V obdobju hipertiroze lahko uporabimo blokatorje receptorjev  $\beta$  za simptomatsko zdravljenje tahikardije. Zdravljenje basedovke začnemo s tirostatiki (tiamazol ali propiltiouracil), ti zavirajo nastajanje ščitničnih hormonov. Dodamo lahko blokatorje receptorjev  $\beta$ , po nekaj mesecih pa še levotiroksin, da se izognemo z zdravili povzročeni hipotirozi (3, 5, 6).

Pri zdravljenju diabetične ketoacidoze so ključne tri stvari: nadomeščanje tekočin, popravljanje koncentracije elektrolitov in dodajanje kratkodelujočega inzulina. Popravljanje acidoze z dodajanje bikarbonata začnemo šele, ko je pH krvi pod 6,9. Običajni odmerek inzulina je 0,1 E/kg telesne teže na uro. Pri elektrolitih pa moramo posebno pozornost posvetiti kaliju, ki ob začetku delovanja inzulina in posledičnem popravljanju acidoze začne prehajati v znotrajcelični prostor. Posledica tega je lahko huda hipokaliemija, ki povzroči motnje srčnega ritma. Sladkorno bolezen tipa 1, ki je vzrok diabetične ketoacidoze, je treba trajno zdraviti z inzulinom (1, 2).

**LITERATURA**

1. Gregorič N, Urbančič Rovan V. Diabetična ketoacidoza in diabetični aketotični hiperosmolarni sindrom. In: Košnik M, Štajer D, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: Buča; 2018. p. 899–902.
2. Urbančič Rovan V. Sladkorna bolezen. In: Košnik M, Štajer D, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: Buča; 2018. p. 868–99.
3. Gaberšček S. Ščitnica. In: Košnik M, Štajer D, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: Buča; 2018. p. 741–53.
4. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev*. 2014; 13 (4–5): 391–7.
5. Bathgate G, Karra E, Khoo B. New diagnosis of hyperthyroidism in primary care. *BMJ*. 2018; 362: k2880.
6. Biondi B, Khalay CJ, Robertson RP. Thyroid dysfunction and diabetes mellitus: two closely associated disorders. *Endocr Rev*. 2019; 40 (3): 789–824.

## **Zgodnje zdravljenje s traneksamično kislino umestno tudi pri nezgodni poškodbi možganov**

**Lancet, november 2018**

Zdravljenje s traneksamično kislino zmanjša krvavitve ob kirurškem posegu in umrljivost pri poškodovancih z nezgodno krvavitvijo zunaj lobanje. Izsledki raziskave CRASH-3, objavljeni v novembrski številki revije Lancet, pa razširjajo spoznanje o koristi zdravljenja s traneksamično kislino tudi na poškodovance z nezgodno poškodbo možganov.

Raziskava je potekala v 175 središčih iz 29 držav, vanjo pa so od julija 2012 do januarja 2019 vključili 12.737 odraslih poškodovancev. Poškodovanci so utrpeli nezgodno poškodbo možganov največ 3 ure prej in so imeli ob oceni po Glasgowski lestvici kome 12 točk ali manj znake znotrajlobanjske krvavitve na CT-posnetku. Po ključnostnem izboru so jih razporedili bodisi za zdravljenje s traneksamično kislino (obremenitveni odmerek 1 g v 10 minutah, nato iv. infuzija 1 g v 8 urah) bodisi za zdravljenje s placebom. Poškodovanci, zdravstveno osebje in raziskovalci, ki so vrednotili izide, so bili glede razporeditve zaslepljeni.

Traneksamično kislino oziroma placebo je v največ 3 urah po poškodbi prejelo 72,2% poškodovancev. Pogostost smrti, povezane s poškodbo glave, je bila pri teh poškodovancih 18,5% v skupini, ki je prejela traneksamično kislino, in 19,8% v skupini, ki je prejela placebo (razmerje tveganj 0,94; 0,86–1,02). Dodatne analize so razkriale, da je zdravljenje s traneksamično kislino pomenljivo zmanjšalo s poškodbo glave povezano umrljivost pri poškodovancih z blago ali srednje težko poškodbo (0,78; 0,64–0,95), pri poškodovancih s hudo poškodbo pa na umrljivost ni imelo vpliva (0,99; 0,91–1,07). Zgodnje zdravljenje je bilo učinkovitejše, vendar samo pri poškodovancih z blago ali srednje težko poškodbo. Pogostost okluzivnih žilnih dogodkov je bila v obeh skupinah podobna. Skupini se tudi nista pomenljivo razlikovali v nobenem od meril stopnje telesne oviranosti pri preživelih.

# Imunoterapija z durvalumabom izboljša izide kemoterapije bolnikov z drobnoceličnim rakom pljuč

*Lancet, november 2019*

Pri večini bolnikov z drobnoceličnim rakom bolezen odkrijejo v napredovalem stadiju, zato je napoved slaba. Izsledki raziskave CASPIAN, objavljeni v zadnji novembrski številki revije Lancet, obetajo boljše rezultate z zdravljenjem z durvalumabom. Gre za monoklonsko protitelo, ki z zaviranjem učinka PD-L1 deluje kot zaviralec kontrolnih točk imunskega sistema (angl. *immune checkpoint inhibitor*).

Odrasle bolnike z drobnoceličnim rakom pljuč v napredovalem stadiju, ki poprej niso bili zdravljeni, so v raziskavo vključili v 209 središčih v 23 državah. Po naključnostnem izboru so jih razporedili v tri skupine: ena skupina je prejela samo intravenosko kemoterapijo s platino (cisplatin ali karboplatin) in etopozidom, dve skupini pa sta poleg platine in etopozida prejeli še durvalumab oziroma durvalumab s tremelimumabom. Bolniki so prejeli štiri tritedenske kroge zdravljenja, nato pa so prejeli bodisi vzdrževalno zdravljenje z durvalumabom vsake štiri tedne oziroma do šest krogov zdravljenja s platino in etopozidom brez ali s profilaktičnim obsevanjem glave.

V protokolu raziskave načrtovana vmesna analiza podatkov je pokazala, da je primerjava izidov med skupino, ki je prejela

durvalumab ter platino in etopozid (268 bolnikov), in skupino, ki je prejela samo platino in etopozid (269 bolnikov) dosegla v protokolu opredeljeno raven statističnega pomena. V srednjem času sledenja 24,2 meseca je bilo skupno preživetje v skupini, ki je prejela durvalumab, statistično pomenljivo boljše (razmerje tveganj za smrt 0,73; 95 % interval zaupanja 0,59–0,91). Srednje preživetje je bilo 13,0 meseca v skupini, ki je prejela durvalumab ter platino in etopozid, in 10,3 meseca v skupini, ki je prejela samo platino in etopozid. Osemnajst mesecev po vključitvi v raziskavo je bilo živih več bolnikov, ki so prejeli durvalumab (34 % proti 25 %). Pogostost škodljivih učinkov stopnje 3 ali 4 je bila v obeh skupinah 62 %.

Raziskovalci so poudarili, da je bilo zdravljenje z durvalumabom povezano z izboljšanjem skupnega preživetja, preživetja brez napredovanja bolezni in pogostosti objektivnega odgovora na zdravljenje v primerjavi s skupino, obravnavano v skladu s sodobno klinično prakso. Prilagodljivost pri izbiri kemoterapije s platino ter kombinacija z imunoterapijo razširjata terapevtske možnosti pri teh bolnikih.

## Zdravljenje z levotiroksinom starejšim starostnikom s subkliničnim hipotiroidizmom ne prinaša koristi

*The Journal of the American Medical Association, november 2019*

Razširjenost subkliničnega hipotiroidizma narašča s starostjo. Nekateri bolniki s tem stanjem težijo zaradi simptomov, kot so zaprtje, mentalna upočasnjenost, utrujenost in depresija. Dosedanje raziskave niso pokazale, da bi zdravljenje z levotiroksinom prispevalo k izboljšanju teh simptomov pri starostnikih, vendar so bili v njih manj zastopani starejši od 80 let, ki bi utegnili imeti od zdravljenja večjo korist. Skupina raziskovalcev iz več evropskih držav je zato opravila analizo združenih podatkov iz dveh raziskav zdravljenja z levotiroksinom pri preiskovancih, starih vsaj 80 let, ki so živeli v domačem okolju.

Raziskavi sta potekali od aprila 2013 do maja 2018, vanje pa je bilo zajetih skupaj 251 preiskovancev, starih povprečno 85 let. Naključnostno izbranih 112 preiskovan-

cev je prejelo levotiroksin, preostalih 139 preiskovancev pa placebo. Zdravljenje je bilo dvojno zaslepljeno. Raziskavi je po protokolu zaključilo 212 preiskovancev (84%).

Povprečna ocena teže simptomov hipotiroidizma po vprašalniku ThyPRO (angl. *Thyroid-Related Quality of Life Patient-Reported Outcome*) se je v 12 mesecih zmanjšala z 21,7 na 19,3 točke v skupini, ki je prejela levotiroksin, in z 19,8 na 17,4 točke v skupini, ki je prejela placebo. Razlika med skupinama ni bila statistično značilna. Ocena utrujenosti se je v obeh skupinah povečala glede na izhodiščno vrednost. Skupini se tudi nista razlikovali glede pogostosti škodljivih dogodkov. Raziskovalci zato menijo, da rutinsko zdravljenje z levotiroksinom tudi pri starejših starostnikih s subkliničnim hipotiroidizmom ni umestno.

## Povezava med depresijo pri zdravnikih in pogostostjo strokovnih napak obojesmerna

*The Journal of the American Medical Association, november 2019*

Simptomi depresije pri zdravnikih niso redek pojav. Nekatere, vendar ne vse, raziskave so jih povezovala z večjo pogostostjo strokovnih napak. Ameriški in brazilski raziskovalci so s sistematičnim pregledom literature in metaanalizo rezultatov izbra-

nih raziskav skušali bolj zanesljivo opredeliti velikost tveganja za strokovno napako pri zdravnikih s simptomi depresije. Učinkovite ukrepe za izboljšanje varnosti zdravstvene obravnave in počutja zdravnikov je mogoče utemeljiti le na zanesljivih podatkih.

Merilom za vključitev v metaanalizo je zadostilo 11 raziskav (4 presečne raziskave in 7 raziskav z dolgotrajnim sledenjem), ki so jih odkrili s poizvedbami po elektronskih bibliografskih in drugih virih za obdobje do konca leta 2018. Devet raziskav je potekalo v ZDA, po ena pa na Japonskem in v Južni Koreji. Vanje je bilo vključenih skupaj 21.517 zdravnikov.

Statistični izračun je pokazal, da je bila verjetnost za strokovno napako (domnevno ali potrjeno) pri zdravnikih s pozitivnim rezultatom presejalnega testa za depresijo

skoraj 2-krat večja kot pri ostalih (razmerje tveganj 1,95; 95 % interval zaupanja 1,63–2,33). Ocena tveganja je bila v raziskavah z dolgotrajnim sledenjem (5.595 preiskovancev) manjša kot v presečnih raziskavah (15.922 preiskovancev). Metaanaliza rezultatov raziskav z dolgotrajnim sledenjem pa je nakazala, da utegne biti povezava med depresijo in strokovnimi napakami obojesmerna. Tveganje za pojav simptomov depresije pri zdravnikih, ki se jim je poprej zgodila strokovna napaka, je bilo večje kot pri ostalih preiskovancih (1,67; 1,48–1,87).

## **Dolgoročna učinkovitost z zdravili prevlečenih koronarnih žilnih opornic pri bolnikih z akutnim srčnim infarktom z dvigom ST-spojnice podobna**

*Journal of the American College of Cardiology, november 2019*

Bolniki, ki jim ob primarni perkutani oskrbi akutnega srčnega infarkta z dvigom ST-spojnice vstavijo z zdravilom prevlečeno koronarno žilno opornico, dolgoročno utrpijo manj ponovnih srčno-žilnih dogodkov kot bolniki, ki jim vstavijo navadno kovinsko opornico. Med posameznimi vrstami z zdravilom prevlečenih opornic pa dolgoročno ni razlik v varnosti in učinkovitosti. To sta najpomembnejša zaključka metaanalize združenih podatkov iz 15 randomiziranih kontroliranih raziskav, katere rezultati so bili objavljeni v novembrski številki revije Journal of the American College of Cardiology.

Raziskovalci so združili podatke za skupaj 10.979 bolnikov z akutnim srčnim infarktom z dvigom ST-spojnice. Povprečna starost bolnikov ob akutnem dogodku je bila 60,7 leta, nekaj več kot tri četrtine je bilo moških. V srednjem času sledenja 3 leta je bila oskrba z opornico, prevlečeno s paklitakselom, sirolimusom, everolimusom ali biolimusom, povezana s 26–35 % manjšo pogostostjo opazovanih dogodkov (smrt zaradi bolezni srca, ponovni srčni infarkt ali ponovni revaskularizacijski poseg na mestu prvotne okvare žile) kot oskrba z navadno kovinsko opornico. Opornica, prevlečena z zotarolimusom, v tej analizi ni bila

učinkovitejša od navadne kovinske. Med posameznimi vrstami z zdravili prevlečenih opornic niso ugotovili statistično pomenljivih razlik v izidih. Vstavitev z zdravilom prevlečene koronarne opornice druge generacije je bila povezana s pomenljivo manj-

šo pogostostjo verjetne ali nedvomne tromboze v opornici tako glede na navadne kovinske opornice (razmerje tveganj 0,61; 95 % razpon zaupanja 0,42–0,89) kot na z zdravilom prevlečene opornice prve generacije (0,56; 0,36–0,88).

## Novi podatki o poteku bolezni pri bolnikih z okvaro pljuč zaradi uporabe e-cigaret

*Lancet, november 2019*

V ZDA so marca 2019 zaznali pojav okvare pljuč, povezane z uporabo e-cigaret oz. vejpanjem (angl. *vaping-associated lung injury*, VALI). Do konca oktobra so poročali že o skoraj 1.900 primerih. Raziskovalci iz več središč v ZDA so v decembrski številki revije Lancet objavili poročilo o analizi primerov, ki so jih obravnavali v okviru zdravstvenega sistema Intermountain Healthcare v ameriški zvezni državi Utah.

V obdobju od junija do oktobra 2019 so v 13 bolnišnicah obravnavali 60 bolnikov z okvaro pljuč, povezano z uporabo e-cigaret. Polovica bolnikov je e-cigarete uporabljala vsaj 225 dni, pogostost uporabe je bila v razponu od enkrat tedensko do več kot 50-krat dnevno, nekateri bolniki so navedli, da so vejpali »ves čas« ali »vsakih 5 minut«.

Velika večina jih je imela simptome okvare dihal (dispneja, kašelj, bolečina v prsnem košu, plevritična bolečina, hemoptiza), večina tudi splošne (vročina, mrzlica, utrujenost) in gastrointestinalne simptome (slabost, bruhanje, bolečina v trebuhu). Skoraj vsi bolniki (95 %) so prejeli steroide, velika večina tudi antibiotike in kisik. Več kot polovico bolnikov (55 %) so spre-

jeli v intenzivno enoto. Šest bolnikov (10 %) so v dveh tednih po prvi obravnavi ponovno sprejeli v bolnišnico, od tega dva, ki sta ponovno pričela z vejpanjem. Od 26 bolnikov, ki so prišli na kontrolni pregled vsaj 2 tedna po odpustu iz bolnišnice, je z vejpanjem znova pričel samo eden. Pri vseh bolnikih so ugotovili izboljšanje simptomov in izvidov rentgenskega slikanja ter funkcijskih preiskav pljuč, vendar so kašelj, nepravilnosti na rentgenskih posnetkih in okrnjeno delovanje pljuč vztrajali pri več kot polovici.

Umrla sta dva bolnika, oba zaradi vzrokov, ki niso bili povezani z okvaro pljuč (večorganska odpoved po kirurški oskrbi zaradi vnetja žolčnika in zastoj srca ob perkutani zamenjavi srčne zaklopke). V obeh primerih so presodili, da okvara pljuč zaradi vejpanja ni bila vzrok smrti, bi pa utegnila prispevati k takemu razpletu.

Specifični vzrok okvare pljuč ob uporabi e-cigaret ni znan, je zapisano v zaključku poročila. Takojšnja opustitev uporabe e-cigaret in podobnih izdelkov pa se zdi najboljši način za preprečevanje primarne ali ponovne okvare delovanja pljuč v teh okoliščinah.



# Defibrilacija z javno dostopno napravo pred prihodom reševalcev koristi tudi, če ne vzpostavi spontanega krvnega obtoka

*Lancet, december 2019*

Dosedanje raziskave so pokazale, da je nameščanje javno dostopnih avtomatskih zunanjih defibrilatorjev povezano z izboljšanjem preživetja bolnikov, ki doživijo zastoj srca zunaj bolnišnice s srčnim ritmom, pri katerem je mogoča defibrilacija. Izkušnje kažejo, da defibrilacija, opravljena z javno dostopno napravo pred prihodom reševalcev, v več kot 80 % teh primerov ne zagotovi obstojne vzpostavitve spontanega krvnega obtoka. Japonski raziskovalci iz več akademskih središč so zato z analizo prospektivno zbranih podatkov iz populacijskega registra skušali ugotoviti, ali defibrilacija z avtomatskim zunanjim defibrilatorjem, ki jo opravijo naključne priče dogodka, kljub temu prispeva k ugodnejšem razpletu.

Analiza je zajela podatke za skoraj 1,3 milijona bolnikov, ki so na Japonskem utrpeli zastoj srca zunaj bolnišnice v letih 2005–2015. Med njimi je bilo 28.019 bolnikov, pri katerih je prišlo do zastoja srca z ritmom, ki je omogočal defibrilacijo, pred pričami, ki so pričele s postopki oživljanja. V 89,5 % oziroma 8,0 % primerov ni prišlo

do ponovne vzpostavitve spontanega krvnega obtoka pred prihodom reševalcev kljub izvajanju temeljnih postopkov oživljanja oziroma izvajanju temeljnih postopkov oživljanja in defibrilaciji.

Kot so raziskovalci zapisali v poročilu, objavljenem v decembrski številki revije Lancet, je bil delež tistih, ki so preživeli 30 dni po dogodku z ugodnim nevrološkim izidom (ocena po točkovniku CPC 1 ali 2), večji pri bolnikih, pri katerih so priče dogodka opravile defibrilacijo (37, % proti 22,6 %). Statistična analiza je potrdila statistično pomembnost razlike (razmerje obetov 1,45; 95 % interval zaupanja 1,24–1,69). Podobno so ugotovili tudi v primerjavi skupnega preživetja 30 dni po dogodku (44,0 % proti 31,8 %).

Raziskovalci menijo, da rezultati potrjujejo korist takojšnjega oživljanja v kombinaciji z uporabo javno dostopnega defibrilatorja kljub možnosti, da se bo zaradi tega podaljšal transport v bolnišnico. Izsledki po njihovem mnenju tudi upravičujejo nadaljnje uvajanje javno dostopnih defibrilatorjev.

## Zdravljenje z irbesartanom zavira širjenje aorte pri mlajših bolnikih z Marfanovim sindromom

*Lancet, december 2019*

Zdravljenje z irbesartanom je povezano z upočasnitvijo hitrosti razširjanja aorte pri otrocih in mlajših odraslih z Marfanovim sindromom, so pokazali rezultati britanske randomizirane, dvojno slepe in s placebom kontrolirane raziskave AIMS (angl. *Aortic Irbesartan Marfan Study*). Rezultate raziskave je v decembrski številki objavila revija Lancet.

Raziskava je potekala v 22 središčih v Veliki Britaniji, vanjo pa so od marca 2012 do maja 2015 vključili 192 bolnikov s klinično potrjenim Marfanovim sindromom, starih od 6 do 40 let. Polovica bolnikov je bila ob vstopu v raziskavo mlajša od 18 let, delež žensk je bil 52 %. Naključnostno so jih razporedili v skupino, ki je dnevno prejemale do 300 mg irbesartana dnevno, in v sku-

pino, ki je prejemale placebo. Zdravljenje je bilo dvojno zaslepljeno in je trajalo 5 let.

Ob začetku zdravljenja je bil premer korena aorte v obeh skupinah povprečno 34,4 mm. Povprečna hitrost širjenja korena aorte je bila v skupini, ki je prejemale irbesartan, 0,53 mm/leto, v skupini, ki je prejemale placebo, pa 0,74 mm/leto. Razlika 0,22 mm/leto v prid zdravljenja z irbesartanom je bila statistično značilna.

Rezultati raziskave, so zaključili raziskovalci, prispevajo nova spoznanja k razumevanju učinka zaviralcev angiotenzinskih receptorjev pri zaviranju širjenja aorte. Dosedanji dokazi kažejo, da gre za učinek razreda zdravil, kar že preverjajo v metaanalizi podatkov za posamezne bolnike iz dosedanjih raziskav.

## Laparoskopska operacija povezana z manjšo pogostostjo zarastlin v trebuhu

*Lancet, januar 2020*

Zarastline so najpogostejši dolgoročni zaplet operacije v trebuhu. Retrospektivna raziskava, ki so jo opravili raziskovalci iz več nizozemskih in drugih evropskih akademskih središč, je pokazala, da je laparoskopski poseg povezan z manjšo pojavnostjo zarastlin, pogostost ponovnega sprejema

v bolnišnico zaradi tega zapleta pa kljub temu ostaja veliko. Poročilo o ugotovitvah je bilo objavljeno v prvi januarški številki revije Lancet.

Raziskovalci preučili podatke o bolnikih, ki so jim opravili laparoskopski ali odprt kirurški poseg v trebuhu ali medenici

v letih 2009–2011, ki so bili zajeti v podatkovno zbirko *Scottish National Health Service*. S poizvedbami po podatkovni zbirki so jih sledili do konca leta 2017.

Analiza je zajela podatke za 72.270 bolnikov, od katerih so približno 30 % opravili laparoskopski, približno 70 % pa odprt poseg. V petih letih po operaciji je bilo 3,5 % bolnikov v bolnišnico ponovno sprejetih zaradi težav, neposredno povezanih z zarastlinami, 17,6 % bolnikov pa zaradi težav, ki bi utegnile biti povezane z zarastlinami. Sta-

tistična analiza je pokazala, da je bila laparoskopska operacija povezana s pomenljivo manjšo pogostostjo ponovnega sprejema v bolnišnico zaradi zarastlin. Tveganje za ponoven sprejem v bolnišnico zaradi težav, neposredno povezanih z zarastlinami, je bilo po laparoskopski operaciji za 32 % manjše (razmerje tveganj 0,68; 95 % razpon zaupanja 0,60–0,77), zaradi težav, ki bi utegnile biti povezane z zarastlinami, pa za 11 % manjše (0,89; 0,85–0,94) kot po odprti operaciji.

## Perkutani poseg umesten tudi za oskrbo okvar debla leve koronarne arterije?

*Lancet, januar 2020*

Majhna pogostost resnih zapletov po oskrbi zožitve koronarne arterije s perkutanim posegom je spodbudila tudi raziskave primerljivosti izidov perkutane in kirurške revaskularizacije pri bolnikih z okvaro debla leve koronarne arterije. Raziskava NOBLE (angl. *Nordic-Baltic-British Left Main Revascularisation*) je bila zasnovana z namenom potrditi, da je pri teh bolnikih perkutana oskrba klinično enakovredna koronarni premostitvi glede skupne pogostosti pomembnih srčnih in možganskožilnih dogodkov. Poročilo o ugotovitvah je v januarjski številki objavila revija *Lancet*.

V devetih severnoevropskih državah, v katerih je potekala raziskava, so v 36 bolnišnicah vanjo vključili 1201 bolnika z okvaro debla leve koronarne arterije, zaradi katere je bila umestna koronarna revaskularizacija. Po naključnostnem izboru so

598 razporedili v skupino za perkutani poseg, 603 pa za koronarno premostitveno operacijo. Po srednjem času sledenja 4,9 leta so dosegli v protokolu raziskave opredeljeno število opazovanih dogodkov (smrt zaradi katerega koli vzroka, neusodni srčni infarkt, ponoven revaskularizacijski poseg in možganska kap), ki je zagotavljalo ustrezno statistično moč.

V skupini s perkutanim posegom je katerega od opazovanih dogodkov utrpelo 28 % bolnikov, v skupini s koronarno premostitvijo pa je bil ta delež 19 %. Statistični izračun je pokazal, da perkutani poseg glede tega ni bil klinično enakovreden (razmerje tveganj 1,58; 1,24–2,01) oziroma je bila korist koronarne premostitve statistično večja. Umrljivost je bila v obeh skupinah 9 %, k razliki pa sta največ doprinesli večji pogostosti srčnega infarkta (8 % pro-

ti 3 %) in ponovnega revaskularizacijskega posega (17 % proti 10 %) po perkutanem posegu.

Obstoječi dokazi po mnenju uredništva revije kažejo, da je mogoče zožitev debla leve koronarne arterije oskrbeti s perkutanim ali kirurškim posegom ob primerljivi umrljivosti. Pristnost drugih okvar, posebej

v kombinaciji s sladkorno boleznijo, utegne olajšati odločitev za koronarno premostitev, perkutani poseg pa bi utegnil biti bolj umesten pri bolnikih z akutnim koronarnim sindromom. Bolniki, pri katerih sta umestni obe vrsti revaskularizacije, morajo biti dobro seznanjeni s koristmi in tveganji enega in drugega posega.

## **Konzervativna začetna obravnava bolnikov s primarnim spontanim pnevmotoraksom prav tako učinkovita kot intervencijska?**

*The New England Journal of Medicine, januar 2020*

Konzervativna obravnava bolnikov s primarnim spontanim pnevmotoraksom, pri kateri drenažo opravijo le, če postane pnevmotoraks fiziološko pomemben, je alternativen in za bolnika manj obremenjujoč pristop. Cilj randomizirane raziskave PSP (angl. *Primary Spontaneous Pneumothorax*), ki je potekala v 39 bolnišnicah v Avstraliji in na Novi Zelandiji, je bil potrditi, da je konzervativna obravnava učinkovit in sprejemljiv pristop s podobnim deležem bolnikov, pri katerih pride do popolnega razpetja pljuč, kot pri intervencijskem pristopu.

Skupaj 316 bolnikov s spontanim enostranskim pnevmotoraksom, ki je zajemal vsaj 32 % prizadete polovice prsnega koša, izračunane po Collinsovi metodi, so naključnostno razporedili za bodisi konzervativen bodisi takojšen intervencijski pristop. Vsi bolniki so prejeli ustrezna protibolečinska zdravila in kisik glede na rezultat pulzne oksimetrije. Bolnikom iz konzervativno obravnavane skupine so po vsaj 4 urah opa-

zovanja še enkrat slikali prsni koš in jih, če niso potrebovali kisika, odpustili domov s pisnimi navodili in protibolečinskim zdravljenjem. Bolnikom iz intervencijske skupine so takoj opravili drenažo in jih, če so se pljuča popolnoma razpela in iz drena skozi vodno tesnilo niso več uhajali mehurčki zraka, prav tako odpustili domov.

V skupini s konzervativno obravnavo je bil kirurški ukrep potreben pri 15,4 % bolnikov, pri ostalih pa dodatni ukrepi niso bili potrebni. Statistična analiza, v kateri so morali upoštevati nepopolne podatke za 37 bolnikov oziroma 23 bolnikov iz skupin s konzervativno oziroma intervencijsko obravnavo, je pokazala, da so bila po 8 tednih pljuča ponovno popolnoma razpeta pri 94,4 % oziroma 98,5 % bolnikov. Razlika 4,1 odstotne točke v prid intervencijskega pristopa ni imela statistične značilnosti in je bila manjša kot v protokolu opredeljenih 9 odstotnih točk, kar je bila statistična meja nemanjvrednosti konzervativnega pristopa.

V analizi, v kateri so manjkajoče podatke po 56 dneh od začetka obravnave upoštevali kot neuspeh zdravljenja, pa je bila razlika 11 odstotnih točk v prid intervencijskega pristopa statistično pomenljiva. Konzervativni pristop, so raziskovalci zapisali v poročilu v januarski številki revije *The New England Journal of Medicine*, je bil povezan z manjšo pogostostjo resnih zapletov in manjšo pogostostjo ponovnega pnevmotoraksa.

Rezultati raziskave so zmerno zanesljiv dokaz, da je mogoče s konzervativno obravnavo v 8 tednih doseči radiografsko okrevanje po srednjem do velikem primarnem sponatnem pnevmotoraksu s podobno uspešnostjo kot z začetno intervencijsko obravnavo. Konzervativni pristop je prihranil kirurški ukrep 85 % bolnikov, povezan je bil tudi s krajšim bolnišničnim zdravljenjem in krajšo odsotnostjo z dela kot intervencijski pristop.

## **Novi podatki o razširjenosti avtoprotiteles proti celicam otočkov trebušne slinavke pri majhnih otrocih**

*The Journal of the American Medical Association, januar 2020*

Sladkorno bolezen tipa 1 pri otrocih običajno odkrijejo ob pojavu simptomov. Zgodnje prepoznavanje otrok brez simptomov bolezni ostaja klinični izziv. Nemška raziskava Fr1da je bila zasnovana z namenom oceniti razširjenost sladkorne bolezni tipa 1 brez simptomov pri otrocih, starih 2–5 let, ki so jim ob rednem pediatričnem pregledu ponudili možnost testiranja za protitelesa proti celicam otočkov trebušne slinavke. Rezultate, ki utegnejo biti vodilo pri odločanju o populacijskem presejanju, je objavila revija *The Journal of the American Medical Association* v januarski številki.

V raziskavi sta sodelovali približno dve tretjini pediatrov v osnovni zdravstveni dejavnosti na Bavarskem. V letih 2015–2019 so vanjo vključili 90.632 otrok oziroma približno petino vseh otrok za raziskavo primerne starosti na Bavarskem. Ob pregledu jih je bila polovica mlajša od 3,1 leta. Sladkorno bolezen tipa 1 brez simptomov, kar so opredelili kot prisotnost vsaj dveh različnih vrst avtoprotiteles, ugotovili pri 280 oziroma 0,31 % otrok. Nadaljnje sledenje je pokazalo, da je bolezen v 3 letih napredovala v stadij 3 (pojav simptomov) pri 24,9 % otrok. Pri dveh otrocih je prišlo do blage ali zmerne diabetične ketoacidoze.

# Seznam diplomantov, ki so diplomirali na Medicinski fakulteti v Ljubljani od 1. novembra 2019 do 13. februarja 2020

## Diplomanti medicine

Brovč Monika	15. 11. 2019	Baligač Barbara	16. 12. 2019
Mikuž Neža	15. 11. 2019	Macura Živa	16. 12. 2019
Kramar Sara	18. 11. 2019	Berić Lada	19. 12. 2019
Vrtačič Nina	20. 11. 2019	Hojker Marta	19. 12. 2019
Kolar Matic	21. 11. 2019	Kotar Nuša	19. 12. 2019
Koselj Jaka	21. 11. 2019	Trebše Neža	19. 12. 2019
Kosi Urška	21. 11. 2019	Markežič Anka	20. 12. 2019
Lazar Lea	21. 11. 2019	Tomažič Petra	23. 12. 2019
Leiler Špela	21. 11. 2019	Velkavrh Tim	23. 12. 2019
Logar Nina	21. 11. 2019	Žerjav Živa	23. 12. 2019
Novak Tjaša	10. 12. 2019	Peric Marco	14. 1. 2020
Macura Živa	10. 12. 2019	Šparaš Matija	20. 1. 2020
Miklavčič Martina	10. 12. 2019	Goršič Sara	21. 1. 2020
Panjan Matej	10. 12. 2019	Gosak Maja	23. 1. 2020
Jurinčič Gregor	12. 12. 2019	Krhlikar Nina	4. 2. 2020
Panjan Matej	12. 12. 2019	Predanič Drobne Iza	6. 2. 2020
Pšeničny Evita	12. 12. 2019	Bošnjak Eva	6. 2. 2020
Lekše Anja	13. 12. 2019	Pahor Tina	7. 2. 2020

## Diplomanti dentalne medicine

Vidovič Tilen	3. 12. 2019	Rojko Urška	18. 12. 2019
Škerl Špela	13. 12. 2019	Čuk Katarina	27. 1. 2020
Arbeiter Mojca	17. 12. 2019	Vasić Mirjana	29. 1. 2020
Kostanjšek Nina	18. 12. 2019	Devjak Bine	4. 2. 2020
Lavrin Petra	18. 12. 2019		

## Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Rajh Marko	6. 11. 2019	Karakatič Sanja	23. 12. 2019
Peterlin Ela	4. 12. 2019	Hanželič Jure	12. 2. 2020
Koštomaj Urška	16. 12. 2019	Timošek Eva	12. 2. 2020
Kmetič Urška	19. 12. 2019		



## Navodila avtorjem

Medicinski razgledi so recenzirana strokovna revija z več kot 50-letno tradicijo, ki izhaja štirikrat letno. V reviji so objavljeni raziskovalni in pregledni članki z vseh področij biomedicinskih znanosti ter klinični primeri. Namen revije je ciljnemu bralstvu, predvsem študentom splošne in dentalne medicine ter družinskim zdravnikom v splošni praksi, v slovenskem jeziku posredovati najnovejša dognanja na področju biomedicine. S tem želimo pripomoči k napredku in uveljavljenosti slovenske biomedicinske znanosti. Cilj uredništva je objavljati kakovostne znanstvene prispevke, ne glede na vrsto in tematiko, pri čemer dajemo prednost raziskovalnim člankom in zanimivim kliničnim primerom iz prakse.

### PRIPRAVA PRISPEVKA

Prispevki morajo biti pripravljani v skladu s priporočili, ki jih objavlja International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) – Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals. Priporočila so dostopna na <http://www.icmje.org/recommendations/>

Uredništvo sprejema samo prispevke, ki še niso bili in ne bodo objavljeni drugje. Izjemoma lahko uredništvo presodi, da v uredniški postopek sprejme že objavljen oz. podoben prispevek, za katerega je koristno, da doseže najširši krog bralstva (npr. klinične smernice in priporočila), pri čemer morajo avtorji to uredništvu sporočiti ob oddaji prispevka in zagotoviti pristanek odgovornega urednika revije, kjer je prispevek že bil objavljen. Vse oddane prispevke uredništvo pregleda s programsko opremo za odkrivanje plagiatov. Dele prispevka, ki so povzeti po drugi literaturi (predvsem slike in tabele), mora spremljati dovoljenje avtorja in založnika prispevka za reprodukcijo.

### Jezik besedila

Zaželeno je, da so prispevki v slovenskem jeziku, pri čemer jih mora obvezno spremljati prevod izvlečka (angl. *abstract*) in ključnih besed (angl. *key words*) v angleščini.

### Avtorstvo

Pogoji za avtorstvo so natančno opisani v priporočilih ICMJE, ključni pa so naslednji kriteriji:

- znatno sodelovanje pri zasnovi in oblikovanju prispevka oz. pri zbiranju, analizi in interpretaciji podatkov,
- zasnovanje osnutka prispevka oz. pregled vsebine le-tega,
- pregled in strinjanje s končno verzijo prispevka in
- strinjanje s prevzemom odgovornosti za prispevek in pripravljenost k razreševanju vseh vprašanj, povezanih z natančnostjo in integriteto prispevka.

Avtorji prispevka morajo izpolnjevati vse štiri zgoraj navedene kriterije. Samo zbiranje podatkov ne zadostuje za avtorstvo. Kakršnekoli spremembe v avtorstvu prispevka po oddaji prispevka uredništvu morajo s podpisom potrditi vsi avtorji prvotno oddanega prispevka.

### Etična načela in navzkrižje interesov

Pri prispevkih, ki obravnavajo raziskave na ljudeh ali živalih, mora biti v poglavju metode navedeno ustrezno soglasje pristojne komisije oz. ustanove, da je raziskava etično sprejemljiva in v skladu z načeli Helsinške deklaracije oz. ostalimi pomembnimi dokumenti, ki obravnavajo etičnost biomedicinskih raziskav. Za klinične študije (angl. *clinical trial*) je zaželeno registracija študije pri enem od javnih registrov, odobrenih s strani ICMJE, v skladu s standardi Svetovne zdravstvene organizacije. Več informacij,



vključno z definicijo klinične študije, je dostopnih na <http://www.who.int/ictrp/en/>

Obvezno je, da avtorji kliničnih primerov (angl. *case report*) pridobijo privolitev bolnikov (oz. če to ni mogoče, bližnjih svojcev) za objavo kliničnega primera. Privolitev ni potrebna le v primeru, če lahko avtorji prispevka zanesljivo zagotovijo, da istovetnost bolnika ni ugotovljiva.

Avtorji so uredništvu dolžni posredovati informacije o vseh (finančnih, osebnih, akademskih itd.) navzkrižjih interesov (angl. *conflict of interest*), ki bi lahko vplivala na objektivnost in verodostojnost prispevka.

## Struktura prispevka

Prispevek naj bo pripravljen v programskem paketu Microsoft Word® ali OpenOffice.org (datoteke s končnicama .doc ali .docx), pisava naj bo Times New Roman, velikost črk 12pt, razmik med vrsticami 1,5 in širina robov 2,5 cm. Skupaj z naslovno stranjo in literaturo naj prispevek obsega največ 30 strani. Prispevek mora obvezno imeti naslovno stran, izvlečka in ključne besede v slovenskem in angleškem jeziku ter seznam literature. Raziskovalni članki naj bodo členjeni na naslednja poglavja: izhodišča, metode, rezultati in razprava. Pregledni članki in klinični primeri so lahko zasnovani drugače, pri čemer naj bo delitev na poglavja in podpoglavja jasno razvidna, obvezno pa morajo vsebovati uvod in zaključek.

## Naslovna stran

Obsega naj naslov prispevka v slovenskem in angleškem jeziku, imena avtorjev z natančnimi akademskimi in strokovnimi naslovi, kontaktnim elektronskim naslovom ter popoln naslov ustanove, inštituta ali klinike, kjer je prispevek nastal. Naslov naj bo kratek in natančen, opisen in ne trdilen (povedi v naslovih niso dopustne). Navedeni naj bodo viri finančnih sredstev, opreme, zdravil itd., potrebnih za izvedbo raziskave, in izjava avtorjev o možnih navzkrižjih interesov.

## Izvleček in ključne besede

Druga stran naj obsega izvlečka v slovenskem in angleškem jeziku. Izvlečka naj obsegata od 150 do 250 besed. Izvleček raziskovalnega članka naj bo strukturiran (izhodišča, metode, rezultati in zaključki), izvlečki ostalih prispevkov so nestrukturirani. V izvlečku naj bo predstavljen osnovni namen prispevka, vsebinsko naj povzema in ne le našteva bistvene vsebine prispevka. Izvleček ne sme vsebovati kratic in okrajšav. Avtorji naj navedejo do sedem ključnih besed, ki natančneje opredeljujejo vsebino prispevka.

## Izhodišča, uvod

V izhodiščih (pri raziskovalnih člankih) oz. uvodu (pri preglednih člankih in kliničnih primerih) avtorji predstavijo temo prispevka v logičnem zaporedju, od širšega konteksta in trenutno veljavnih dejstev, do ožje opredeljenega specifičnega problema oz. novih spoznanj, ki jih želijo predstaviti v prispevku (t. i. struktura lijaka). Pri raziskovalnih člankih mora biti v izhodiščih jasno oblikovana hipoteza.

## Metode

V poglavju metode avtorji opišejo protokol, s katerim so želeli razjasniti zastavljeni problem oz. potrditi hipotezo. Opis protokola mora biti dovolj natančen in temeljit, da bi bilo enako raziskavo možno ponoviti. Avtorji morajo navesti tip in proizvajalca opreme ter imena zdravilnih učinkovin, uporabljenih v raziskavi. Prav tako morajo navesti statistične metode in programsko opremo, ki je bila uporabljena za analizo podatkov. Obvezna je izjava o etični ustreznosti raziskave (več podrobnosti najdete v poglavju Etična načela in navzkrižje interesov).

## Rezultati

V besedilu poglavja rezultati avtorji predstavijo glavne ugotovitve raziskave oz. odgovor na raziskovalno vprašanje, podrob-

ne podatke pa podajo v tabelah ali slikah. Avtorji se morajo izogibati podvajanju podatkov iz tabel ali slik v besedilu. P-vrednosti je treba podati najmanj na tri decimalke natančno.

### **Razprava, zaključek**

Razprava ni namenjena ponovnemu navajanju rezultatov, temveč njihovi interpretaciji in primerjavi s sorodnimi objavami v literaturi. Treba je podati zaključek (pri preglednih člankih in kliničnih primerih naj bo to samostojno poglavje), kjer avtorji razpravljajo o uporabnosti in pomembnosti svojega prispevka ter možnih usmeritvah za prihodnje delo.

### **Tabele**

Tabele naj bodo smiselno vstavljene v besedilo prispevka. Ločeno jih oštevilčite po vrstnem redu, na vsako tabelo se je treba sklicevati v besedilu. Nad tabelo sodi spremno besedilo, ki naj vsebuje zaporedno številko tabele in kratek naslov, pojasnjene naj bodo tudi vse kratice, okrajšave in nstandardne enote, ki se pojavljajo v tabeli.

### **Slike**

Slike morajo biti profesionalno izdelane ali fotografirane. Slike sprejemamo samo v digitalni obliki in samo v kvaliteti, primerni za tisk (300 DPI). Sprejemamo slike v rastrskih zapisih (datoteke s končnicami .jpeg, .tiff, .png, .gif itd.) ali v vektorskem zapisu (datoteke s končnicami .ai, .eps, .cdr itd.). Preproste sheme lahko narišete tudi s pomočjo programskega paketa Microsoft Word®. Črke, številke ali simboli na sliki morajo biti jasni, enotni in dovolj veliki, da so berljivi tudi na pomanjšani sliki. Fotografijam, na katerih se lahko ugotovi istovetnost bolnika, obvezno priložite pisno dovoljenje bolnika.

Na vsako sliko se je treba sklicevati v besedilu prispevka. Slik ne vstavljajte le v besedilo prispevka, ampak jih posredujte tudi v samostojnih datotekah, poimeno-

nih z zaporedno številko slike in imenom prvega avtorja. Pod vsako sliko morate obvezno dodati spremno besedilo, ki naj vsebuje zaporedno številko slike, naslov slike in potrebno razlago vsebine. Slika skupaj s spremnim besedilom mora biti razumljiva tudi brez branja ostalega besedila. Pojasniti morate vse okrajšave na sliki. Če imate kakršnekoli dvome glede kakovosti slik, se predhodno posvetujte z uredništvom.

### **Merske enote**

V besedilu uporabljajte enote, ki so v skladu z mednarodnim sistemom enot (SI).

### **Kratice in okrajšave**

V naslovih (pod)poglavij in izvlečkih naj ne bo kratic. Na mestu, kjer se kratica prvič pojavi v besedilu, naj bo le-ta polno izpisana, kratica pa naj bo napisana v oklepaju. Izjema so mednarodno veljavne oznake merskih enot in splošno uveljavljene okrajšave (3D, aids, AMP, ATP, cAMP, cGMP, CT, DNA, EKG, EUR, GMP, GTP, HIV, MRI, RNA, RTG, UZ, ZDA).

### **Literatura**

Vsako navajanje trditve ali dognanj drugih morate podpreti z referenco. Reference v besedilu, slikah in tabelah navedite ležeče v oklepaju z arabskimi številkami na koncu citirane trditve, pred piko oz. dvopičjem (t. i. Vancouverški sistem citiranja). Reference naj bodo v besedilu oštevilčene po vrstnem redu, tako kot se pojavljajo. Reference, ki se pojavljajo samo v tabelah ali slikah, naj bodo oštevilčene tako, kot se bodo pojavile v besedilu. Seznam citirane literature naj bo na koncu prispevka. Literaturo citirajte po navodilih, ki jih navaja ameriška National Library of Medicine v vodiču Citing Medicine (dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>), za pomoč pri citiranju imen revij priporočamo uporabo spletnega portala PubMed (dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). V citatu navedite vse avtorje, le v primeru, da so avtorji več kot

trije, navedite le prve tri in pripišite et al. Isto velja za navajanje urednikov knjig.

V nadaljevanju navajamo nekaj primerov pravilnega citiranja literature:

#### *Članek v reviji*

Petek Šter M, Švab I. Bolniki s sočasnimi boleznimi v družinski medicini. *Med Razgl.* 2008; 48 (2): 205–11.

Bajuk Studen K, Preželj J, Kocjan T, et al. Mehanizmi srčno-žilne ogroženosti žensk s sindromom policističnih ovarijev. *Zdrav Vestn.* 2009; 78: 129–35.

Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, et al. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol.* 2005; 62 (1): 112–6.

#### *Članek v reviji, kjer je avtor organizacija*

American Diabetes Association. Diabetes update. *Nursing.* 2003; Suppl: 19–20, 24.

#### *Volumen s suplementom*

Vesel S. Spremembe na srcu pri Kawasaki bolezni. *Med Razgl.* 2002; 41 Suppl 2: 139–43.

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1994; 102 Suppl 2: 275–82.

#### *Številka s suplementom*

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol.* 1996; 23 (1 Suppl 2): 89–97.

#### *Posamezni deli članka (izvlečki, pisma uredništvu ipd.)*

Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [izvleček]. *Kidney Int.* 1992; 42: 1285.

Jackson B, Fleming T. A drug is effective if better than a harmless control [pismo uredništvu]. *Nature.* 2005; 434 (7037): 1067.

#### *Knjiga*

Ahčan U. Prva pomoč: priročnik s praktičnimi primeri. Ljubljana: Rdeči križ Slovenije; 2007.

Jenkins PF. Making sense of the chest x-ray: a handson guide. New York: Oxford University Press; 2005.

Eyre HJ, Lange DP, Morris LB. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; c2002.

Advanced Life Support Group. Acute medical emergencies: the practical approach. London: BMJ Books; 2001.

#### *Poglavje v knjigi*

Možina M, Jamšek M, Šarc L, et al. Zastrupitve. In: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D, eds. *Interna medicina.* Ljubljana: Littera picta; 2005. p. 1143–507.

Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, ed. *The cat: diseases and clinical management.* New York: Churchill Livingstone; 1989. p. 229–332.

Kone BC. Metabolic basis of solute transport. In: Brenner BM, Rector FC, eds. *Brenner and Rector's the kidney.* 8th ed. Vol. 1. Philadelphia: Saunders Elsevier; c2008. p. 130–55.

#### *Poročila s kongresov*

Ferreira de Oliveira MJ, ed. Accessibility and quality of health services. Proceedings of the 28th Meeting of the European Working Group on Operational Research Applied to Health Services (ORAHS); 2002 Jul 28–Aug 2; Rio de Janeiro, Brazil. Frankfurt (Germany): Peter Lang; c2004.

10th International Psoriasis Symposium; 2004 Jun 10–13; Toronto, ON. Chicago: Skin Disease Education Foundation; 2004.

Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, et al. Canabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, eds. Proceedings of the 10th World Congress on Pain; 2002 Aug 17–22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003. p. 437–68.

#### *Doktorska in magistrska dela, raziskovalne naloge*

Šabovič M. Mehanizem fiziološkega in farmakološkega raztapljanja krvnih strdkov [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 1992.

Liu-Ambrose TY. Studies of fall risk and bone morphology in older women with low bone mass [doktorsko delo]. Vancouver (BC): University of British Columbia; 2004.

Weisbaum LD. Human sexuality of children and adolescents: a comprehensive training guide for social work professionals [magistrsko delo]. Long Beach (CA): California State University, Long Beach; 2005.

#### *Pravne listine in zakoni*

Zakon o zdravniški službi 1999. Uradni list RS št. 98/1999.

#### *Internetna stran*

AMA: helping doctors help patients [internet]. Chicago: American Medical Association; c1995–2007 [citirano 2007 Feb 22]. Dosegljivo na: <http://www.ama-assn.org/>

#### *Članek na internetu*

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a casecontrol study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [internet]. 2006 [citirano 2007 Jan 5]; 27 (1): 347. Dosegljivo na: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>

#### *Knjiga na internetu*

Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, et al., eds. *Harrison's online* [internet]. 16th ed. Colum-

bus (OH): McGraw-Hill Companies; c2006 [citirano 2006 Nov 20]. Dosegljivo na: <http://www.accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=4>

#### *Podatkovna baza na internetu*

Online Archive of American Folk Medicine [internet]. Los Angeles: Regents of the University of California. 1996 [citirano 2007 Feb 1]. Dosegljivo na: <http://www.folkmed.ucla.edu/>

#### *Članek na CD-ju, DVD-ju ipd.*

Kauffman CA, Bonilla HF. Trends in antibiotic resistance with emphasis on VRE. *FPR* [CD-ROM]. 1998; 20 (10).

#### *Knjiga na CD-ju, DVD-ju ipd.*

Kacmarek RM. *Advanced respiratory care* [CD-ROM]. Verzija 3.0. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; c2000.

#### *Računalniški program na CD-ju, DVD-ju ipd.*

Meader CR, Pribor HC. *DiagnosisPro: the ultimate differential diagnosis assistant* [CD-ROM]. Verzija 6.0. Los Angeles: MedTech USA; 2002.

#### *Neobjavljeni prispevek*

Laking G, Lord J, Fischer A. The economics of diagnosis. *Health Econ*. V tisku 2006.

## **ODDAJA PRISPEVKA**

Prispevke in slike pošljite po elektronski pošti na naslov [prispevki@medrazgl.si](mailto:prispevki@medrazgl.si)

V elektronskem sporočilu, s katerim odgovornemu uredniku oddajate prispevek, na kratko predstavite vsebino prispevka in pomembne nove ugotovitve v njem ter navedite korespondenčnega avtorja (s polnim naslovom, telefonsko številko in elektronskim naslovom), ki bo skrbel za komunikacijo z uredništvom in ostalimi avtorji.

Oddani prispevek mora obvezno spremljati izjava o avtorstvu in avtorskih pravicah, s katero potrjujete, da izpolnujete kriterije ICMJE za avtorstvo prispevka in da se

strinjate s prenosom avtorskih pravic na Društvo Medicinski razgledi. Izjavo morajo lastnoročno podpisati vsi avtorji in originalni izvod poslati po navadni pošti na naslov uredništva: Društvo Medicinski razgledi, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana. Dokler izjave ne prejmemo, prispevka ne bomo objavili. Izjavo najdete na naši spletni strani: [http://www.medrazgl.si/arhiv/mr\\_izjava\\_o\\_avtorstvu.pdf](http://www.medrazgl.si/arhiv/mr_izjava_o_avtorstvu.pdf)

## UREDNIŠKO DELO

Odgovorni urednik vsak oddani prispevek pregleda in se odloči o uvrstitvi v uredniški postopek. Prispevke, uvrščene v uredniški postopek, posreduje ostalim članom uredniškega odbora, ki poskrbijo za tehnične in slogovne popravke, ter popravljen prispevek vrnejo avtorjem v pregled. Nato vsebino prispevka oceni strokovni recenzent, ki avtorjem ni znan, prav tako strokovni recen-

zent ni seznanjen z identiteto avtorjev. Prispevek pregledata tudi lektorja za slovenski in angleški jezik. Avtor pred objavo prispevka dobi na vpogled krtačne odtise (t. i. prve korekture), vendar na tej stopnji upoštevamo samo popravke tiskarskih napak. Komentarje na krtačne odtise morate vrniti v treh dneh, sicer menimo, da nimate pripomb.

Uredništvo pri svojem delu upošteva priporočila Committee on Publication Ethics (COPE), objavljena na <http://publication-ethics.org/>

Pri prispevkih, kjer je eden od avtorjev glavni urednik, odgovorni urednik, tehnični urednik ali član uredniškega odbora Medicinskih razgledov, se držimo priporočil COPE za zagotavljanje neodvisnega in preglednega uredniškega postopka.

Navodila avtorjem prispevkov so bila nazadnje posodobljena 23. 3. 2014. Navodila so dostopna na <http://www.medrazgl.si/>

## Guidelines for Authors

Medicinski razgledi is a quarterly peer-reviewed scientific journal, which has been in continuous publication for over 50 years. It publishes research and review articles from all fields of biomedical sciences as well as clinical case reports. The scope of Medicinski razgledi is to offer its target readership, specifically medical and dental students as well as family doctors, information about the latest biomedical developments in Slovenian language and thus contribute to the advancement and recognition of Slovenian biomedicine. The aim of the editorial board is to publish good scientific manuscripts, regardless of topic and form, with a special emphasis on research articles and interesting clinical case reports.

### MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscripts must conform to the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals published by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). The recommendations are available at <http://www.icmje.org/recommendations/>

Only manuscripts that have not already been submitted and will not be submitted elsewhere are accepted. It is at the editorial board's discretion to decide whether a duplicate or an overlapping publication might be justifiable due to the nature of the manuscript (e.g. clinical guidelines and recommendations, published with the intent of reaching the broadest audience possible). If such an exception is to be made, the authors have to notify the editorial board of a possible duplicate or an overlapping publication in advance and obtain the permission of the editor of the journal to which the manuscript was originally submitted. All submitted manuscripts will be analyzed with plagiarism detection soft-

ware. If a part of a submitted manuscript was taken from another publication (e.g. figures and tables), the authors must obtain copyright permission from the author of the original publication and its publisher.

### Language

The preferred language of Medicinski razgledi is Slovenian. The abstract and key words should be submitted in both Slovenian and US English.

### Authorship

As per ICMJE recommendations, determination of authorship is based on the following four criteria:

- substantial contributions to the conception or design of the manuscript; or the acquisition, analysis, or interpretation of data,
- drafting of the manuscript or critical revision for important intellectual content,
- final approval of the version to be published, and
- agreement to be accountable for all aspects of the manuscript in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the manuscript are appropriately investigated and resolved.

All designated authors of a manuscript should meet all aforementioned criteria for authorship. Participation in data acquisition alone is insufficient for manuscript authorship. Any changes in the authorship of the manuscript after submission have to be confirmed to the editorial board in writing by everyone listed as authors in the originally submitted manuscript.

### Ethical considerations and conflicts of interest

Manuscripts based on research involving humans or animals must list under methods

the approval of an appropriate ethical review board which states that the research was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki and other important documents pertaining to the ethics of biomedical research. Clinical trials should be registered in one of ICMJE-approved public trials registries in accordance with the World Health Organization standards; more information regarding clinical trial registration is available at <http://www.who.int/ictrp/en/>

It is mandatory for the authors of case reports to obtain permission from the patient (or, if that is not possible, close relatives) before submitting the case report. Permission is not required only if the authors can guarantee that the case cannot be identified.

Authors should disclose information on any possible conflict of interest (financial, personal, academic etc.) that could influence the objectivity and validity of the manuscript.

## Organization of the manuscript

Manuscripts should be edited using Microsoft Word® or OpenOffice.org software and submitted as .doc or .docx files. The font should be Times New Roman, size 12 pt, with line spacing of 1.5 and margins of 2.5 cm. The length of the manuscript should not exceed 30 pages, including the first (title) page and references. The manuscript must contain a first page, abstracts and key words in Slovenian and English as well as a list of references. Research articles should have the following structure: introduction, methods, results and discussion. Review articles and case reports can be structured differently, but have to include an introduction and conclusions.

### First (title) page

The first page should carry the article title in both Slovenian and English, full names of the authors (including their academic and

professional titles), contact e-mail and address of the institution, institute or clinic to which the work should be attributed. The title should be concise, descriptive and not affirmative (no sentences). Sources of financial support, equipment, drugs etc. should be stated along with the disclosure of conflicts of interest.

### Abstract and key words

The second page should contain the abstracts in Slovenian and English. The abstracts should be between 150 and 250 words in length. Research article abstracts should have the following structure: backgrounds, methods, results and conclusions. Review article abstracts and case report abstracts should be unstructured. The purpose of the abstract is to present the aim of the manuscript while recapitulating the content. The abstract should not contain abbreviations. Authors must list up to seven key words, which summarize the content of the manuscript.

### Introduction

The authors should present the problem in a brief, yet structured way, proceeding from the general, broad context and already known facts, to the problem itself and its solutions within the manuscript (the so-called funnel structure). In research articles, the introduction should contain a clear hypothesis.

### Methods

The methods chapter should describe the protocol authors used to find an answer to a problem or to test the hypothesis. Protocol description should be precise enough to allow for the repeatability of the research. Authors have to state the type and manufacturer of the scientific equipment and chemicals used in the research. Methods and software used for statistical analysis have to be clearly described. The approval of relevant ethical committees must also be



stated (for more information see chapter Ethical considerations and conflicts of interest).

### **Results**

The text of the results chapter should clearly state the main findings, with additional details provided in tables and figures. Authors should avoid repeating the data from the tables and figures in the text. They should provide exact P-values (at least three decimal places).

### **Discussion, conclusions**

The purpose of the discussion is not to recapitulate results, but to interpret them and compare them with relevant existing publications. Conclusions (in review articles or in clinical case reports they should form a separate chapter), are intended for the authors to discuss the implications of their findings and possible considerations for future research.

### **Tables**

Tables should be logically inserted into the text and sequentially numbered. Each table has to be referenced in the text of the manuscript. Tables should contain a title with the sequential number and an explanation of all the abbreviations and non-standard units used in the table.

### **Figures**

Figures should be professionally designed or photographed and submitted in digital form and in print quality (300 DPI). Figures can be submitted as raster graphics (.jpeg, .tiff, .png, .gif etc.) or as vector graphics (.ai, .eps, .cdr etc.) Simple schemes can be created using Microsoft Word® software. Letters, numbers or symbols shown in the figures should be clear, uniform, and large enough to be readable once the figure is minimized. Figures from which the identity of the patient can be determined must be accompanied by written consent of the patient.

In the text, every figure has to be referenced. As well as being inserted into the appropriate place in the manuscript, figures should be also submitted as separate files, with file names containing the sequential number of the figure and the name of the first author of the manuscript. Legends under the figures should contain the sequential number, figure title and the information necessary for the understanding of figure content. Figures together with accompanying legends should be understandable without reading the body text. All abbreviations in the figures must be explained. If you have any doubts about the technical adequacy of figures, please consult the editorial board before submission.

### **Units of measurement**

All units of measurement used in the manuscript should be stated using the International System of Units (SI).

### **Abbreviations**

The chapter headings and abstracts should not contain abbreviations. All non-standard abbreviations should be explained in the following way: the term should be written in full the first time it appears in the text, followed by the abbreviation in parentheses. The exception to this rule are standard units of measurement and abbreviations (3D, aids, AMP, ATP, cAMP, cGMP, CT, DNA, EKG, EUR, GMP, GTP, HIV, MRI, RNA, RTG, US, USA).

### **References**

Every citation or fact stated in the text, figures or tables must be supported with a reference. References should be listed with sequential Arabic numbers in parentheses before the full stop or colon, written in italic formatting (so-called Vancouver citation style). The reference numbers included only in the figures and tables should follow the same sequence as in the text. The section listing all the references appearing

in the manuscript should be included at the end of the manuscript. Reference formatting described in the National Library of Medicine's Citing Medicine guide (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>) should be used. Journal names should be abbreviated as on PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). The names of the first three referenced authors of the manuscript should be stated, followed by et al.

Examples of correct reference formatting:

*Journal article*

Petek Šter M, Švab I. Bolniki s sočasnimi boleznimi v družinski medicini. *Med Razgl.* 2008; 48 (2): 205–11.

Bajuk Studen K, Preželj J, Kocjan T, et al. Mehanizmi srčno-žilne ogroženosti žensk s sindromom policističnih ovarijev. *Zdrav Vestn.* 2009; 78: 129–35.

Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, et al. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol.* 2005; 62 (1): 112–6.

*Journal article with organization as author*

American Diabetes Association. Diabetes update. *Nursing.* 2003; Suppl: 19–20, 24.

*Journal article volume with supplement*

Vesel S. Spremembe na srcu pri Kawasaki-kijeji bolezni. *Med Razgl.* 2002; 41 Suppl 2: 139–43.

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1994; 102 Suppl 2: 275–82.

*Journal article issue with supplement*

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol.* 1996; 23 (1 Suppl 2): 89–97.

*Journal article with type of article indicated*

Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [izvleček]. *Kidney Int.* 1992; 42: 1285.

Jackson B, Fleming T. A drug is effective if better than a harmless control [pismo uredništvu]. *Nature.* 2005; 434 (7037): 1067.

*Book*

Ahčan U. Prva pomoč: priročnik s praktičnimi primeri. Ljubljana: Rdeči križ Slovenije; 2007.

Jenkins PF. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005.

Eyre HJ, Lange DP, Morris LB. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; c2002.

Advanced Life Support Group. Acute medical emergencies: the practical approach. London: BMJ Books; 2001.

*Chapter in a book*

Možina M, Jamšek M, Šarc L, et al. Zastrupitve. In: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D, eds. *Interna medicina.* Ljubljana: Littera picta; 2005. p. 1143–507.

Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, ed. *The cat: diseases and clinical management.* New York: Churchill Livingstone; 1989. p. 229–332.

Kone BC. Metabolic basis of solute transport. In: Brenner BM, Rector FC, eds. *Brenner and Rector's the kidney.* 8th ed. Vol. 1. Philadelphia: Saunders Elsevier; c2008. p. 130–55.

*Conference proceedings*

Ferreira de Oliveira MJ, ed. Accessibility and quality of health services. *Proceedings*

of the 28th Meeting of the European Working Group on Operational Research Applied to Health Services (ORAHs); 2002 Jul 28–Aug 2; Rio de Janeiro, Brazil. Frankfurt (Germany): Peter Lang; c2004.

10th International Psoriasis Symposium; 2004 Jun 10–13; Toronto, ON. Chicago: Skin Disease Education Foundation; 2004.

Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, et al. Canabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, eds. Proceedings of the 10th World Congress on Pain; 2002 Aug 17–22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003. p. 437–68.

*Dissertations and theses, scientific reports*  
Šabovič M. Mehanizem fiziološkega in farmakološkega raztapljanja krvnih strdkov [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 1992.

Liu-Ambrose TY. Studies of fall risk and bone morphology in older women with low bone mass [doktorsko delo]. Vancouver (BC): University of British Columbia; 2004.

Weisbaum LD. Human sexuality of children and adolescents: a comprehensive training guide for social work professionals [magistrsko delo]. Long Beach (CA): California State University, Long Beach; 2005.

#### *Legal documents*

Zakon o zdravniški službi 1999. Uradni list RS št. 98/1999.

#### *Web sites*

AMA: helping doctors help patients [internet]. Chicago: American Medical Association; c1995–2007 [citirano 2007 Feb 22]. Dosegljivo na: <http://www.ama-assn.org/>

#### *Journal articles on the internet*

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after

femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [internet]. 2006 [citirano 2007 Jan 5]; 27 (1): 34–7. Dosegljivo na: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>

#### *Books on the internet*

Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, et al., eds. *Harrison's online* [internet]. 16th ed. Columbus (OH): McGraw-Hill Companies; c2006 [citirano 2006 Nov 20]. Dosegljivo na: <http://www.accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=4>

#### *Databases on the internet*

Online Archive of American Folk Medicine [internet]. Los Angeles: Regents of the University of California. 1996 [citirano 2007 Feb 1]. Dosegljivo na: <http://www.folk-med.ucla.edu/>

#### *Journal articles on CD-ROM, DVD, or Disk*

Kauffman CA, Bonilla HF. Trends in antibiotic resistance with emphasis on VRE. FPR [CD-ROM]. 1998; 20 (10).

#### *Books on CD-ROM, DVD, or Disk*

Kacmarek RM. *Advanced respiratory care* [CD-ROM]. Verzija 3.0. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; c2000.

#### *Computer programs on CD-ROM, DVD, or Disk*

Meader CR, Pribor HC. *DiagnosisPro: the ultimate differential diagnosis assistant* [CD-ROM]. Verzija 6.0. Los Angeles: Med-Tech USA; 2002.

#### *Forthcoming journal articles*

Laking G, Lord J, Fischer A. The economics of diagnosis. *Health Econ*. V tisku 2006.

## **SUBMISSION OF MANUSCRIPTS**

Manuscripts and figures should be submitted via e-mail to [prispevki@medrazgl.si](mailto:prispevki@medrazgl.si)

The submission should be accompanied by a Letter to the Editor stating the topic

and major findings of the manuscript along with corresponding author's information (full name, phone number and e-mail address).

All submitted manuscripts must be accompanied by the Authorship and Copyright Statement Form, with which the authors confirm that they fulfill the ICMJE criteria for manuscript authorship and that the copyright of all material published is vested in Društvo Medicinski razgledi. All authors must sign the statement form and send the original to the following address: Društvo Medicinski razgledi, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana, Slovenia. Accepted manuscripts will not be published until signed statements from all authors have been received. The Authorship and Copyright Statement Form is available at [http://www.medrazgl.si/arhiv/mr\\_statement\\_of\\_authorship.pdf](http://www.medrazgl.si/arhiv/mr_statement_of_authorship.pdf)

## **EDITORIAL WORK**

The editor reviews every submitted manuscript. Accepted manuscripts are forwarded to editorial board members for technical

editing. The manuscripts are then returned to the authors and subsequently forwarded to peerreviewers. The peerreview process is confidential with neither the authors nor the peerreviewers being aware of each other's identity. Manuscripts are also proofread by readers for Slovenian and English. Before publication, authors receive page proofs. The authors must notify the editorial board of any print errors in the page proofs in three working days, as no further corrections are possible afterwards.

The editorial board conducts its work in accordance with the Committee on Publication Ethics (COPE) guidelines, which are available at <http://publicationethics.org/>

Manuscripts which are co-authored by the editor-in-chief, editor, production editors or members of the editorial board are subject to COPE recommendations for an independent and unbiased editing.

Guidelines for manuscript authors were last updated on 23. 3. 2014 and are available at <http://www.medrazgl.si>

## **MEDICINSKI RAZGLEDI**

Biomedical research, professional and review articles

---

### **EDITORIAL OFFICE**

Društvo Medicinski razgledi  
Korytkova ulica 2  
1000 Ljubljana  
Slovenia

**T** +386 1 524 23 56   **F** +386 1 543 70 11  
**E** info@medrazgl.si  
**W** www.medrazgl.si  
**POR: 02014-0050652588**

---

### **EDITOR-IN-CHIEF**

Tilen Kristanc

### **MANAGING EDITOR**

Anžej Hladnik

### **PRODUCTION EDITORS**

Anamarija Hribar, Jurij Martinčič,  
Anita Meglič, Samo Roškar, Gašper  
Tonin

### **EDITORIAL BOARD**

Tjaša Gortnar, Lucija Kobal, Nina  
Kobal, Vanesa Koračin, Katja Kores,  
Filip Korošec, Ana Karin Kozjek,  
Naneta Legan, Gaja Markovič,  
Jure Puc, Zala Roš, Uroš Tršan,  
Lana Vodnik, Nika Vrabič, Ines  
Žabkar, Nika Žagar, Sandra Žunič

### **READERS FOR SLOVENIAN**

Mateja Hočevar Gregorič, Gašper Tonin

### **READER FOR ENGLISH**

Lea Turner

---

### **DTP**

SYNCOMP d. o. o.

### **PRINTING PRESS**

Nonparel d. o. o.

### **FRONT COVER**

Anžej Hladnik

---

### **SUPPORTED BY**

Faculty of Medicine, university  
of Ljubljana  
Slovenian Research Agency

Medicinski razgledi is published in four issues a year, 1,800 copies per issue.  
Regular price per copy is **6 €**, for students **4 €**, for institutions **10 €**.

---

### **COPYRIGHT © MEDICINSKI RAZGLEDI 2020**

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means without written permission from the publisher.



- 
- 3** Editorial
- 5** *In Situ* Vaccination by Gene Electrotransfer for Cancer Treatment – *Urška Kamenšek, Gregor Serša*
- 23** Conduction of the Action Potential Along the Nerve Fiber – *Maša Skelin Klemen*
- 39** Leprosy – *Helena Biasizzo, Petra Grbec*
- 53** Newer Therapeutic Groups for the Treatment of Diabetes Type 2 – *Jasna Klen*
- 71** Fulminant Myocarditis with Multiple Organ Failure Due to Type A Influenza Infection: A Case Report – *Nina Kobal, Bojana Beović, Milica Lukić, Vojka Gorjup*
- 87** Intrapartum Fetal Surveillance – *Katja Ražem, Miha Lučovnik, Bojana Pinter*
- 97** Sigmoid Diverticulitis with Colovesical Fistula – a Case Report with Literature Review – *Metka Sluga, Simon Hawlina, Jan Grosek*
- 107** The Efficacy and Safety of a Daily 1.000 mg Dose of Flebaven® (Diosmin) in Patients with Chronic Venous Disease – *Barbara Krevel, Breda Barbič-Žagar, Nataša Uranič*
- 119** Diagnostic challenge
- 123** News
- 133** List of Graduated Students
- 141** Guidelines for Authors