

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 5

OSREDNJA TEMA:
BENIGNA
HIPERPLAZIJA
PROSTATE



Pot do zdravja

Naš cilj so zdravi in srečni ljudje. Smo veletrgovalnica za prodajo zdravil z najširšo ponudbo izdelkov za humano in veterinarsko medicino v Sloveniji. Odlikujejo nas hitrost, varnost in zanesljivost. Svoje delo opravljamo srčno in predano. Prav zaradi tega nam zaupajo številne lekarne in bolnišnice ter druge zdravstvene in veterinarske ustanove.

Zavedamo se, da nam prihodnost ponuja nešteto izzivov. Premagamo jih lahko z nenehnim izpopolnjevanjem. S kakovostnimi storitvami in s široko izbiro zdravil ter drugih izdelkov bomo zaupanje svojih kupcev opravičevali tudi v prihodnjem!

01 470 98 00 | www.kemofarmacija.si





ODGOVORNI UREDNIK:
Borut Štrukelj

GLAVNA UREDNICA:
Petra Slanc Može

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

IZDAJATELJSKI SVET:
Cvetka Bačar Bole
Polonca Fiala
Janez Ilaš
Mitja Kos
Nina Pisk
Sonja Rupret
Franc Vrečer

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

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

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM
Naklada: 3.400 izvodov

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

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

Letnik 2014 sofinancira Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije iz sredstev državnega proračuna iz naslova razpisa za sofinanciranje domačih znanstvenih periodičnih publikacij.

UVODNIK

Drage kolegice, spoštovani kolegi!

Bliža se konec leta, globoko smo vstopili v veseli december, a vseeno moram uvodnik začeti z žalostno ugotovitvijo, da smo za slabe razmere v zdravstvu in farmaciji, kar zadeva netransparentnost in korupcijo, krivi tudi sami! Priča smo vsem mogočim oblikam koruptivnih dejavnosti, ki so se razlezele v vse pore zdravstva, od operativnih enot do regulatornih oblasti, a vendar ne naredimo nič! Najprej pogledamo, kako in ali bi nam razkritje škodilo, potem pa sicer z nekoliko slabe vesti vtaknemo glavo v pesek in upamo, da bo vihar šel mimo! Še več, v Sloveniji se je grdo razširila navada, da poskušamo tiste, ki s prstom pokažejo na korupcijo in netransparentnost, na vsak način odstraniti, utišati, jih lažno kompromitirati, jim naložiti nepotrebne sodne postopke, samo, da tisti, ki jim je največ do tega, da se stvari ne uredijo, lahko počnejo zavržne dejavnosti vnaprej. Ali se res ne zavedamo, da zaradi izginotja nekaj deset tisoč ali nekaj sto tisoč evrov v koruptivnih poslih, predvsem v javnih institucijah, to plačujemo z nenehnim zatiskanjem pasu mi vsi? Da ne govorim o padcu zaupanja v stroko. Imamo, kar smo gradili, zato smo sokrivi tudi mi!

A kljub vsemu naj z zadovoljstvom napišem, da je bilo za Farmacevtski vestnik iztekajoče se leto uspešno. Že v prejšnjem letu smo vsebinsko Vestnik spremenili, uvedli smo tematske vsebine po indkacijskih področjih in dodali rubriko kratkih strokovnih in znanstvenih novic iz sveta farmacije. Prejeli smo številne pohvale, ne le od vas, strokovnjakinj in strokovnjakov za zdravila, ampak tudi od kolegov zdravnikov, ki so prepoznali vrednost informacij, ki jim jih podajamo. To nas je le utrdilo v prepričanju, da smo se glede sprememb, ki smo jih uvedli v Farmacevtskem vestniku, pravilno odločili. Še naprej se bomo trudili, da bo Farmacevtski vestnik vodilna strokovna revija na področju zdravil v Sloveniji, tudi z vašo pomočjo. V prihajajočem letu 2015 vam v imenu uredniškega odbora Farmacevtskega vestnika želim obilo sreče, zdravja, poslovnih uspehov, predvsem pa poguma do sprememb.

Prof.dr. Borut Štrukelj
Odgovorni urednik



VSEBINA / CONTENT

PREGLEDNI TEMATSKI ZNANSTVENI ČLANKI – THEMATIC REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

- 333** Klemen Jagodič
Kirurško zdravljenje prostatične obstrukcije pri bolnikih s simptomi spodnjih sečil / *Surgery treatment of prostatic obstruction with low urinary track symptoms*
- 337** Janez Ilaš, Aleš Obreza
Zdravila za zdravljenje benigne hiperplazije prostate / *Drugs for treating benign hyperplasia of prostate*
- 344** Nina Kočevar Glavač, Damjan Janeš
Benigna hiperplazija prostate – si lahko pomagamo z zdravilnimi rastlinami? / *Benign prostate hyperplasia – can the use of medicinal herbs be helpful?*

PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI – THEMATIC SCIENTIFIC ARTICLES

- 349** Samo Kreft
Varni in učinkoviti: nova spoznanja o izvlečkih šentjanževke (*Hypericum perforatum*) / *Safe and effective: new research and experience with St. John's Wort (Hypericum perforatum) extract*
- 354** Peter Panjan, Borut Štrukelj
Razvoj genskega zdravljenja pri glioblastomu / *Development of gene therapy for glioblastoma*
- 361** Tanja Prunk, Mojca Lunder, Polonca Ferik
Vloga prenašalca ABCB5 v iniciaciji, invaziji in zasevanju malignega melanoma in možnosti razvoja novih tarčnih učinkovin / *The role of ABCB5 transporter in the initiation, invasion and metastatic spread of malignant melanoma and prospects for development of new target substances*
- 368** Nataša Karas Kuželički
Novi pristopi k zdravljenju akutne limfoblastne levkemije pri otrocih / *New approaches in pediatric acute lymphoblastic leukemia treatment*

378 PREBRALI SMO ZA VAS – SHORT PHARMA NEWS

381 IZ DRUŠTVENEGA ŽIVLJENJA - ACTIVITIES FROM THE SOCIETY

60. obletnica Gorenjske podružnice SFD
7. simpozij Homeopatske sekcije SFD: HOMEOPATIJA V AVSTRIJSKIH LEKARNAH
Simpozij »Delo farmacevta svetovalca – Farmakoterapijski pregled«
Razpis za podelitev društvenih priznanj v letu 2015

386 LETNO KAZALO - CONTENT

KIRURŠKO ZDRAVLJENJE PROSTATIČNE OBSTRUKCIJE PRI BOLNIKIH S SIMPTOMI SPODNJIH SEČIL

SURGERY TREATMENT OF PROSTATIC OBSTRUCTION WITH LOW URINARY TRACK SYMPTOMS

AVTOR / AUTHOR:

Mag. Klemen Jagodič, dr.med. specialist urolog

*Urološki oddelek
Splošna bolnica Celje*

IZVLEČEK

Simptomi spodnjih sečil pomembno vplivajo na kakovost življenja. Najpogostejši vzrok simptomov spodnjih sečil je benigno povečanje prostate, ki je kronična, počasi napredujoča bolezen.

Indikacije za kirurško zdravljenje povečane prostate so: nenadna zapora seča, ki vztraja kljub poizkusu odstranitve urinskega katera, ponavljajoča se vnetja, kamni, krvavitve, kronično zapora seča, okvare delovanja levic, neuspeh medikamentoznega zdravljenja. Transuretralna resekcija prostate je zlati standard kirurškega zdravljenja benigne prostatične obstrukcije. Pri posegu skozi sečnico z endoskopskim instrumentom prostato izdobljemo. Pri manjših prostatah opravimo transuretralno incizijo prostate. Prostato na dveh mestih prerežemo in tako sprostimo prostatično obstrukcijo. Pri zelo velikih žlezah opravimo klasično, odprto prostatektomijo, kjer adenom izluščimo. Kljub vse bolj uspešnemu medikamentoznemu zdravljenju simptomov spodnjih sečil, ima kirurško zdravljenje še vedno svoje mesto.

ABSTRACT

Low urinary track symptoms (LUTS) are an increasing quality of life issue for many men in the age. In spite of many different causes, benign prostatic obstruction (BPO) due to benign prostatic enlargement (BPE) is the most common cause of LUTS. BPE is a chronic, slowly progressive disease.

Prostate surgery is usually required when patients have experienced recurrent or refractory urinary retention, overflow incontinence, recurrent urinary tract infections, bladder stones or diverticula, treatment-resistant macroscopic haematuria or dilatation of the upper urinary tract with or without renal insufficiency (absolute operation indications, need for surgery). Surgery is usually needed after medicament treatments failure (relative operation indications). For 8 decades, transurethral resection of the prostate has been considered the cornerstone of surgical management for BPO. Small prostate are suitable for transurethral incision of the prostate. Open prostatectomy is the oldest surgical treatment modality. It is a choice of treatment for prostates >80ccm. Despite modern medicament treatment, surgery still plays an important role in the treatment of LUTS/BPO.

1 UVOD

Delež kirurško zdravljenih bolnikov s simptomi spodnjih sečil (SSS) zaradi benigne prostatične obstrukcije (BPO) se je z razvitem svetu v zadnjih letih zmanjšal predvsem na račun sodobnega medikamentoznega zdravljenja. Kljub temu ima operativno zdravljenje še vedno svoje mesto: neuspeh medikamentoznega zdravljenja, ponavljajoče se zapore seča, ponavljajoča se vnetja, krvavitve, okvara delovanja ledvic, kamni v sečnem mehurju, zastajanje seča v mehurju po koncu uriniranja. Standardne kirurške metode zdravljenja SSS/BPO so transuretralna resekcija prostate, transuretralna incizija prostate in klasična, odprta prostatektomija.

2 TRANSURETRALNA RESEKCIJA PROSTATE (TURP)

TURP je zlati standard zdravljenja SSS/BPO. Prvič je bila opravljena leta 1932. Opravimo jo pri prostatah velikih 30 – 80 ccm. Z zanko resektoskopa skozi sečnico izdoblamo prostato s pomočjo električnega toka. Krvavitev sprti kontroliramo z elektrokoagulacijo. Stalen pretok tekočine (glicin) spira koščke tkiva in kri. Prekomerna resorpcija tekočine med operativnim posegom lahko privede do hiponatremije (TUR sindrom) (pojavnost manj kot 1,1 %)¹. Uporaba bipolarne tehnologije (bipolarni TURP) omogoča uporabo fiziološke raztopine za izpiranje in s tem omogoča večjo perioperativno varnost (ni pojava TUR sindroma). Po posegu bolniku v sečni mehur za nekaj dni vstavimo urinski kateter. TURP je ena izmed najučinkovitejših metod zdravljenja SSS/BPO. Neposredno po posegu se simptomi mokrenja izboljšajo za 70 %, pretok za 125 %¹. Po petih letih se seštevek IPSS izboljša za 70 %, kakovost življenja za 69 %, količina zastalega seča se zmanjša za 77 %². Tudi 13 let po posegu večina parametrov kaže na pomembno izboljšanje simptomov³. Verjetnost potrebe po nadomeščanju krvnih derivatov je manj kot 9 %. Dolgoročno se lahko pri nekaj več kot 2% bolnikov pojavi urinska inkontinenca, 3,8 % zožitev sečnice, 4,7 % zožitev vratu mehurja². Večina bolnikov (70 %) ima po posegu retrogradne ejakulacije¹.

3 TRANSURETRALNA INCIZIJA PROSTATE (TUIP)

Pri TUIP prostato zarezemo na dveh mestih in tako zmanjšamo BPO brez odstranitve tkiva. Metodo uporabljamo pri prostatah manjših od 30 ccm. Verjetnost klinično pomembne krvavitve je majhna.

4 KLASIČNA ALI ODPRTA PROSTATEKTOMIJA

Klasična prostatektomija je najstarejša kirurška oblika operativnega zdravljenja SSS/BPO. Danes jo opravimo pri izrazito povečanih prostatah (nad 80-100 ccm), ob sočasni prisotnosti večjega divertikla mehurja (ki ga oskrbimo sočasno) ali prisotnosti večjih kamnov. Kljub svoji invazivnosti je dolgoročno najučinkovitejši način zdravljenja SSS/BPO⁴,⁵,⁶. Ima nekoliko višji delež inkontinenca kot TURP (10 %).

5 TRANSURETRALNA MIKROVALOVNA TERAPIJA (TUMT)

Pri TUMT mikrovalovno sevanje segreva prostato in vodi v destrukcijo tkiva, apoptozo in denervacijo α adrenergičnih receptorjev. TUMT je manj učinkovita kot TURP, jo pa bolniki bolje prenašajo. Primerna je zlasti za starejše, komorbidne bolnike, ki so slabi kandidati za anestezijo⁷.

6 TRANSURETRALNA ITELNA ABLACIJA PROSTATE (TUNA)

Z iglo, ki jo preko sečnice zabodemo v prostato, povzročamo koagulacijsko nekrozo prostate, kar vodi v zmanjšanje volumna prostate. TUNA je manj uspešna kot TURP, jo pa bolniki boljše prenašajo⁸.

7 LASERSKA PROSTATEKTOMIJA

Z laserjem lahko povzročimo koagulacijo ali vaporacijo tkiva. Namen razvoja laserske tehnike je zlasti zmanjševanja tveganja za pomembno krvavitev med posegom ter pojavom TURP sindroma.

Holmijev pulzni laser povzroča koagulacijsko nekrozo, ki obenem vodi tudi v zadovoljivo hemostazo med posegom. S pomočjo holmijevega laserja lahko tkivo reseciramo ali enukleiramo. Enukleacija adenoma z laserjem je dolgotrajno enako učinkovita kot TURP^{9,10}. Med posegom je izguba krvi manjša, je pa laserski poseg časovno daljši.

532 nm (greenlight) laserska vaporizacija – laserski žarek se absorbira v hemoglobinu in povzroča uparjanje tkiva. Rezultati so primerni z TURP¹¹.

8 ZAKLJUČEK

Kljub vse bolj uspešnemu medikamentoznemu zdravljenju simptomov spodnjih sečil, ima kirurško zdravljenje še vedno svoje mesto. Večino bolnikov operativno zdravimo z TURP, manjše prostate z TUIP, redkeje opravimo odprto prostatektomijo. V zadnjem času za na pohodu različne oblike laserskih kirurških metod, ki obetajo zlasti večjo perioperativno varnost za bolnika.

9 LITERATURA

1. *Madersbacher S, Marberger M. Is transurethral resection of the prostate still justified? Br J Urol 1999;83:227–37.*
2. *Ahyai SA, Gilling P, Kaplan SA, et al. Meta-analysis of functional outcomes and complications following transurethral procedures for lower urinary tract symptoms resulting from benign prostatic enlargement. Eur Urol 2010;58:384–97.*
3. *Thomas AW, Cannon A, Bartlett E, Ellis-Jones J, Abrams P. The natural history of lower urinary tract dysfunction in men: minimum 10-year urodynamic followup of transurethral resection of prostate for bladder outlet obstruction. J Urol 2005;174:1887–91.*
4. *Kuntz RM, Lehrich K, Ahyai SA. Holmium laser enucleation of the prostate versus open prostatectomy for prostates greater than 100 grams: 5-year follow-up results of a randomised clinical trial. Eur Urol 2008;53:160–8.*
5. *Varkarakis I, Kyriakakis Z, Delis A, Protogerou V, Deliveliotis C. Long-term results of open transvesical prostatectomy from a contemporary series of patients. Urology 2004;64:306–10.*
6. *Naspro R, Suardi N, Salonia A, et al. Holmium laser enucleation of the prostate versus open prostatectomy for prostates >70 g: 24-month follow-up. Eur Urol 2006;50:563–8.*
7. *D'Ancona FC, van der Bij AK, Francisca EA, et al. Results of high energy transurethral microwave thermotherapy in patients categorized according to the American Society of Anaesthesiologists operative risk classification. Urology 1999;53:322–8.*
8. *Bouza C, López T, Magro A, Navalpotro L, Amate JM. Systematic review and meta-analysis of transurethral needle ablation in symptomatic benign prostatic hyperplasia. BMC Urol 2006;6:14.*
9. *Lourenco T, Pickard R, Vale L, et al. Alternative approaches to endoscopic ablation for benign enlargement of the prostate: systematic review of randomised controlled trials. BMJ 2008;337:a449.*
10. *Tan A, Liao C, Mo Z, Cao Y. Meta-analysis of holmium laser enucleation versus transurethral resection of the prostate for symptomatic prostatic obstruction. Br J Surg 2007;94:1201–8.*
11. *Thangasamy IA, Chalasani V, Bachmann A, Woo HH. Photoselective vaporisation of the prostate using 80-W and 120-W laser versus transurethral resection of the prostate for benign prostatic hyperplasia: a systematic review with meta-analysis from 2002 to 2012. Eur Urol 2012;62:315–23.*

SPREMENIMO ŽIVLJENJE VAŠIM BOLNIKOM



Remicade, anti TNF- α indiciran za zdravljenje:¹

- ulceroznega kolitisa,
- aktivne Crohnove bolezni,
- aktivne Crohnove bolezni s fistulami,
- aktivne Crohnove bolezni pri otrocih,
- ulceroznega kolitisa pri otrocih,
- revmatoidnega artritisa,
- ankilozirajočega spondilitisa,
- psoriatičnega artritisa,
- psorizije.

 **Remicade**[®]
INFLIXIMAB
ZA BOLJŠO PRIHODNOST

SKRAJŠAN POVZETEK GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA Pred predpisovanjem, prosimo, preberite celoten Povzetek glavnih značilnosti zdravila, ki ga dobite pri naših strokovnih sodelavcih ali na sedežu družbe Merck Sharp & Dohme! **SESTAVA:** Ena viala vsebuje 100 mg infliksimaba. Infliksimab je hibridno molekularno protiteleso, pridobljeno v mišjih hibridoma celicah s tehnologijo rekombinantne DNK. Po rekonstituciji vsebuje en milijster 10 mg infliksimaba. **INDIKACIJE:** (i) v kombinaciji z metotretatom za zmanjšanje znakov in simptomov revmatoidnega artritisa ter izboljšanje funkcije sklepov pri odraslih bolnikih z aktivno boleznijo, kadar odziv na protirevmatična zdravila, ki vplivajo na imunsko odzivnost, vključno z metotretatom, ni zadosten; in pri odraslih bolnikih s hudo, aktivno in progresivno boleznijo, ki se niso bili zdravljeni z metotretatom ali drugimi protirevmatičnimi zdravili. (ii) Zdravljenje zmerne do močno aktivne Crohnove bolezni pri odraslih bolnikih, ki se niso odzvali na celoten in ustrezen ciklus konvencionalnega zdravljenja. (iii) Zdravljenje hude, aktivne Crohnove bolezni pri otrocih in mladostnikih, starih od 6 do 17 let, ki se niso odzvali na običajno terapijo, ter pri tistih, ki ne prenašajo teh običajnih načinov zdravljenja oziroma imajo kontraindikacije zanje. (iv) Zdravljenje zmerne do močno aktivnega ulceroznega kolitisa pri odraslih bolnikih, ki se ne odzovejo na celoten in ustrezen ciklus zdravljenja s kortikosteroidom in/ali zdravilom za zaviranje imunske odzivnosti, ali pri tistih, ki ne prenašajo tovrstne terapije ali ki imajo medicinske kontraindikacije zanje; zdravljenje aktivne Crohnove bolezni s fistulami pri odraslih bolnikih, ki se niso odzvali na celoten in ustrezen ciklus konvencionalnega zdravljenja. (v) Zdravljenje hudega aktivnega ulceroznega kolitisa pri odraslih bolnikih, ki se ne odzovejo na konvencionalno terapijo. (vi) Zdravljenje aktivnega in napredujočega psoriatičnega artritisa pri odraslih bolnikih v primeru nezadostnega odziva na predhodno zdravljenje s protirevmatičnimi zdravili. **DMARD** v kombinaciji z metotretatom ali samostojno pri bolnikih, ki ne prenašajo metotretata ali pri katerih je metotretat kontraindiciran. (vii) Zdravljenje zmerne do hude psorizije s plakami pri odraslih bolnikih, ki se niso odzvali na druge sistemske terapije ali pa imajo kontraindikacije zanje ali jih ne prenašajo. **ODMEKJANJE IN NAČIN UPORABE:** Revmatoidni artritis: Odemek je 5 mg/kg v intravenski infuziji v času 2 ur, čemur naj sledita dodatni infuziji z odmerkom 5 mg/kg 2 in 6 tednov po prvi infuziji, potem pa na vsaki 8 tednov. Psorizija: 5 mg/kg, dano v obliki 2 ure intravenske infuzije, potem pa dodatne infuzije odemka 5 mg/kg 2 in 6 tednov po prvi infuziji, potem pa na vsaki 8 tednov. Ponovna uporaba zdravila za vse indikacije: V primeru prekinitve vzdrževalnega zdravljenja, in potrebe po ponovni uvedbi zdravljenja, ni priporočljiva ponovna uporaba uvedne sheme. V tem primeru bolniku najprej ponovno uvede zdravilo Remicade v enkratnem odmerku, pozneje pa mu spet predpiše vzdrževalni odmek zdravila v skladu s priporočili. Crohnova bolezen pri odraslih bolnikih, starih od 6 do 17 let: Običajni odmek je 5 mg/kg. Bolniku ga daje v obliki 2 ure intravenske infuzije, ki naj ji sledita dve infuziji v istem odmerku, in sicer 2 in 6 tednov po prvi infuziji, potem pa nadaljuje z infuzijami za vzdrževalno zdravljenje na vsaki 8 tednov. Ulcerozni kolitis (od 6 do 17 let): Odemek je 5 mg/kg v intravenski infuziji, ki traja 2 uri. Temu naj sledita dodatni infuziji z odmerkom 5 mg/kg 2 in 6 tednov po prvi infuziji, potem pa na vsaki 8 tednov. Skrajšane infuzije pri indikacijah za odrasle bolnike: Pri skrajšani infuziji bolnik, ki se dobro prenaša vsaj 3 začetne 2-urne infuzije zdravila Remicade in so trenutno na vzdrževalnem zdravljenju, lahko razmisli o skrajšanju naslednjih infuzij, vendar ne na manj kot 1 uro. Če pri skrajšani infuziji nastopi znajno povešana reakcija in je treba zdravljenje nadaljevati, lahko pri naslednjih infuzijah razmisli o uporabi manjše hitrosti infundiranja. Uporaba skrajšanih infuzij v odmerkih > 6 mg/kg niso proučevali. **KONTRAINDIKACIJE:** Bolniki z anamnezno preobčutljivostjo na infliksimab, druge misje beljakovine ali katero od pomožnih snovi. Bolniki s tuberkulozo ali drugimi hudimi okužbami, kakor so npr. sepsa, abscesi in oportunistične okužbe. Bolniki z znanim do hudim srčnim popuščanjem (razred III/IV po NYHA). **POVZETEK POSEBNIH OPOZORIL, PREVIDNOSTNIH UKREPOV IN INTERAKCIJ:** Za izboljšanje sledljivosti bolnikov zdravljenih z zdravilom Remicade, mora biti v kartoteki bolnika, ki zdravilo prejema, jasno dokumentirano (ali navedeno), zaščiteno ime in število serije zdravila. Zdravljenje z infliksimabom je bilo povezano z akutnimi infuzijskimi reakcijami, vključno z anafilaktičnim šokom in poznimi preobčutljivostnimi reakcijami. Če se pojavi akutna infuzijska reakcija, morate infuzijo takoj prekiniti. Na voljo morajo biti sredstva za nujno pomoč. Za preprečevanje blagih in prehodnih učinkov lahko bolnikom pred zdravljenjem z zdravilom Remicade daste premedikacijo. Če se pojavijo resne reakcije, morate ustavi simptomatično zdravljenje in bolniku ne smete več dajati infuzij tega zdravila. Če bolnik po daljšem obdobju ponovno prejme zdravilo Remicade, ga morate skrbno spremljati zaradi morebitnega pojava znakov in simptomov resne preobčutljivosti. Pred, med in po zdravljenju z zdravilom Remicade morate bolnike skrbno spremljati, da ugotovite morebitne okužbe, npr. tuberkulozo. Bolnika ne smete več zdraviti s tem zdravilom, če dobi resno okužbo ali sepsa. Zaviranje TNF lahko prikrije simptome okužbe. Bolniki, ki jemljejo zaviralce TNF, so bolj občutljivi za resne okužbe. Uporaba zdravila Remicade prekinite, če se pri bolniku pojavi nova resna okužba ali sepsa, in mu uvedite ustrezno protimikrobno ali protiglivično terapijo, dokler ne bo okužba obvladana. Pred začetkom zdravljenja z zdravilom Remicade, morate vse bolnike pregledati in preiskati, da ugotovite morebitno aktivno ali neaktivno tuberkulozo. Če se pri bolnikih, zdravljenih z zdravilom Remicade, razvije resna sistemska bolezen, je treba posumiti na imavno glivično okužbo, kot so aspergiloza, kandidaza, pneumocistoza, histoplasmoza, kokcidioidomikoza ali blastomikoza, poleg tega pa je pri teh bolnikih že zgodaj v poteku preskav potreben posvet z zdravnikom, ki ima strokovno znanje iz diagnostike in zdravljenja imavnih glivičnih okužb. Bolnike, pri katerih obstaja tveganje za okužbo z virusom hepatitisa B, je treba oceniti, ali imajo znake okužbe s HBV, preden smete pri njih uvedti zdravljenje z zdravilom Remicade. Bolniki s simptomi ali znaki morda delovanja jeter morate pregledati oz. opraviti preskave, da ugotovite morebitne znake poskodbe jeter. Kombiniranje zdravila Remicade in abatacepta oz. anakinine ni priporočljivo. Priporočamo, da živih cepiv in povzročiteljev okužb v terapevtske namene ne dajeje sočasno z zdravilom Remicade. Pri pediatrskih infuzijah s Crohnovo boleznijo če je le mogoče opravite vsa cepljenja, v skladu s tekočimi veljavnimi smernicami za cepljenje otrok, preden pri njih uvedete zdravljenje z zdravilom Remicade. Relativno pomanjkanje TNF- α kot posledica anti-TNF terapije lahko sproži avtoimunski proces. Infliksimab in druga zdravila, ki zavirajo TNF- α , so bila v redkih primerih povezana z nevritisom živca, epileptičnimi napadi in novim pojavom ali poslabšanjem kliničnih simptomov in/ali z rentgenskimi znaki demielinizirajočih bolezni osrednjega živčevja, vključno z Guillain Barrejevim sindromom. Pri odločanju o uvedbi zdravljenja pri bolnikih, ki so težki kadilci in imajo zato povečano tveganje za nastanek rakave bolezni, je potrebna previdnost. Glede na sedanje znanje ni mogoče izključiti tveganja za pojav limfomov ali drugih malignih bolezni pri bolnikih, zdravljenih z zaviralci TNF. Previdnost je potrebna tudi pri odločanju o uvedbi zdravljenja z zaviralci TNF pri bolnikih z rakavimi boleznimi in pretekli anamnezi ter pri odločanju o tem, ali naj nadaljujejo z zdravljenjem pri bolnikih, pri katerih se pojavi nov rakava bolezen. Zdravilo Remicade morate uporabljati previdno pri bolnikih z blagim srčnim popuščanjem (razred I/II po NYHA). Pri bolnikih, ki so jemali zaviralce TNF, vključno z zdravilom Remicade, so poročali o pojavu pancytopenije, levkopenije, neutropenije in trombocitopenije. Pri bolnikih, zdravljenih z zdravilom Remicade, ki so bili stari 65 let ali več, je bila incidenca resnih okužb večja kot pri bolnikih, ki so bili mlajši od 65 let. Pri zdravljenju starostnikov je torej treba posebej posebno pozornost tveganju za nastanek okužbe. Ostajajo znaki, da sočasna uporaba metotretata in drugih imunomodulatorjev pri bolnikih z revmatoidnim artritisom, psoriatičnim artritisom in Crohnovo boleznijo zmanjša tvorbo protiteles proti infliksimabu in poveča koncentracijo infliksimaba v plazmi. Ni videti, da bi imeli kortikosteroidi klinično pomenben vpliv na farmakokinetiko infliksimaba. **NEŽELNI UČINKI:** Najpogostejše neželne učinke zdravila, o katerem so poročali v rlativnih preskušanjih, je bila okužba zgornjih dihal, ki se je pojavila pri 25,3 % bolnikov, zdravljenih z infliksimabom, in pri 16,5 % bolnikov iz kontrolne skupine. Med najresnejše, z uporabo zaviralca TNF povezane neželne učinke zdravila, o katerih so poročali pri uporabi zdravila Remicade, sodijo reakcija HBV, kronično srčno popuščanje, resne okužbe (vključno s sepsa, oportunističnimi okužbami in TB), serumska bolezen (pozne preobčutljivostne reakcije), hematološke reakcije, sistemske eritematozni lupus/lupus podobni sindrom, demielinizirajoče bolezni, dogodki z zvezi z jetri ali žolčnikom, limfom, hepatosplenični limfom celič (HSTCL), črevesni ali perianalni abscesi (pri Crohnovi bolezni) ter resne z infuzijo povezane reakcije. **NAČIN IN REŽIM IZDAJE ZDRAVILA:** Zdravilo je zaradi svojih lastnosti, svoje relativne novosti ali zaradi varovanja javnega zdravja namenjeno izključno za zdravljenje, ki ga je mogoče spremljati sama s bolnikinici. **IMETIVN DOLVOLJENJA ZA PROMET Z DRAVILOM:** Janssen Biologics B.V., Einsteinweg 101, 2333-CB Leiden, Nizozemska. **DATUM ZADNJE REVIZIJE BESEDILO:** 25. junij 2013. **PRIPRAVLJENO V SLOVENIJI:** junij 2014. Za dodatne informacije pokličite na predstavništvo Merck Sharp & Dohme, inovativna zdravila d.o.o., Smartarska cesta 140, 1000 Ljubljana, tel: 01/5204 349, fax: 01/5204 350. **LITERATURA:** Povzetek glavnih značilnosti zdravila. **IZDAL IN ZALOŽIL:** Merck Sharp & Dohme, inovativna zdravila d.o.o., Smartarska cesta 140, 1000 Ljubljana. **SAMO ZA STROKOVNO JAVNOST.** GAST-112414-0001 EXP: 10/2016

ZDRAVILA ZA ZDRAVLJENJE BENIGNE HIPERPLAZIJE PROSTATE

DRUGS FOR TREATING BENIGN HYPERPLASIA OF PROSTATE

AVTOR / AUTHOR:

Izr. prof. dr. Janez Ilaš, mag. farm.
Izr. prof. dr. Aleš Obreza, mag. farm.*

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 LJUBLJANA

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: ales.obreza@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Benigna hiperplazija prostate (BHP) je definirana kot nerakavo povečanje prostate pri starejših moških zaradi proliferacije epitelijskih in gladkomišičnih celic, kar se pogosto kaže v simptomih spodnjih sečil. Prevalenca bolezni narašča s starostjo in je pod 15 % pri moških, mlajših od 40 let, 40 % nad šestdesetim letom in 80 % nad osemdesetim letom. Najpogostejše težave, ki se pojavijo pri BHP, so: večja pogostost uriniranja, pogosto uriniranje ponoči, spreminjanje jakosti curka in otežen začetek uriniranja. Čeprav

POVZETEK

V prispevku je predstavljen pregled najpomembnejših sinteznih učinkovin, ki se uporabljajo za zdravljenje benigne hiperplazije prostate. Skoraj izključno se uporabljajo zdravilne učinkovine iz dveh skupin, antagonistov adrenergičnih receptorjev alfa in zaviralcev testosteron-5-alfa reduktaze. Na kratko bodo omenjene tudi nekatere druge učinkovine, ki so bile za namen lajšanja težav v zadnjem času opisane v strokovni in znanstveni literaturi.

KLJUČNE BESEDE:

benigna hiperplazija prostate, antagonist adrenergičnih receptorjev alfa, zaviralci testosteron-5-alfa reduktaze

ABSTRACT

The most important synthetic drugs used for treating benign hyperplasia of prostate are presented in the article. Active ingredients of two pharmacological groups are almost exclusively used, alpha-adrenoreceptor antagonists and testosterone-5-alpha reductase inhibitors. Briefly, some drugs, recently described in scientific and professional literature for the relief of symptoms are also mentioned.

KEYWORDS:

benign hyperplasia of prostate, alpha-adrenoreceptor antagonists, testosterone-5-alpha reductase inhibitors

je BHP zelo redko nevarna za življenje, pa bistveno vpliva na kvaliteto življenja tarčne populacije. Lajšanje težav pri BHP je odvisno od njihove jakosti in je možno na več načinov. Pri lažjih težavah pri izločanju urina se navadno priporoča opazovanje in morebitna sprememba življenjskega sloga (telesna aktivnost, uživanje manj mastne in pekoče hrane...). Zdravila, ki so na voljo za lajšanje težav, uvrščamo v tri skupine: zdravila rastlinskega izvora, antagoniste adrenergičnih receptorjev alfa in zaviralce testosteron-5-alfa reduktaze. Prva skupina bo predstavljena v ločenem prispevku, medtem ko se bomo tu osredotočili na preostali dve skupini. Kirurški posegi, ki se uporabijo zlasti, ko medikamentozno zdravljenje ni uspešno, v tem prispevku prav tako ne bodo zajeti (1–5). Po ATC klasifikaciji uvrščamo zdravila za zdravljenje BHP v skupino G04C, kjer so pred-



stavljene tri skupine, pri čemer so v skupino G04CA vključene tudi kombinacije:

G04C	<i>zdravila za zdravljenje benigne hipertrofije prostate</i>
G04CA	<i>antagonisti adrenergičnih receptorjev alfa</i>
G04CA01	<i>alfuzosin</i>
G04CA02	<i>tamsulozin</i>
G04CA03	<i>terazosin</i>
G04CA04	<i>silodosin</i>
G04CA51	<i>alfuzosin in finasteride</i>
G04CA52	<i>tamsulozin in dutasteride</i>
G04CA53	<i>tamsulozin in solifenacin</i>
G04CB	<i>zaviralci testosteron-5-alfa reduktaze</i>
G04CB01	<i>finasteride</i>
G04CB02	<i>dutasteride</i>
G04CX	<i>druga zdravila za zdravljenje benigne hipertrofije prostate</i>
G04CX03	<i>mepartricin</i>

Najpogosteje se uporabljajo antagonisti adrenergičnih receptorjev alfa, kar potrjujejo tudi rezultati pred kratkim objavljene obširne raziskave na Poljskem. Med 2567 v študijo naključno izbranimi moškimi, starejšimi od 65 let, so zdravili simptome BHP pri dobri četrtini (645 pacientov). Večina, 417 (65 %) jih je prejela zgolj antagonist adrenergičnih receptorjev alfa, 65 (10 %) zaviralec testosteron-5-alfa reduktaze, 141 (22 %) pa kombinacijo obeh. Nekateri izmed pacientov (2 %) so poleg že prej omenjenih zdravil uporabljali tudi antiholinergike. Zdravila rastlinskega izvora je uporabljalo manj kot 10 % zdravljenih moških, 22 (3 %) jih je uporabljalo le ta zdravila (6).

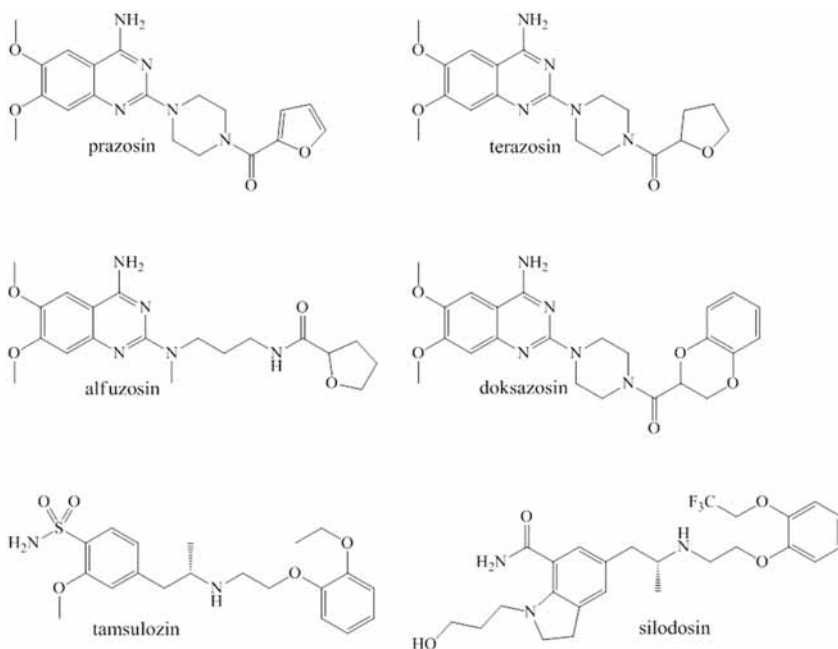
2 ANTAGONISTI ADRENERGIČNIH RECEPTORJEV ALFA

Zdravilne učinkovine prvega izbora pri zmernih do hudih simptomih BHP so selektivni antagonisti adrenergičnih receptorjev alfa₁ (starejši prazosin, terazosin, doksazosin in novejši tamsulozin, alfuzosin in silodosin; Slika 1), ki zaradi zmanjšanja tonusa gladkih mišičnih celic prostate in vrata sečnega mehurja zmanjšajo obstrukcijo pretoka urina in olajšajo simptome spodnjih sečil, značilnih za BHP. Med podtipi receptorjev alfa₁ je v prostati največ, 70–80 % alfa_{1A}, sledijo alfa_{1D} (okrog 25 %), medtem ko je delež za regulacijo krvnega tlaka pomembnih alfa_{1B} relativno ma-

jhen. Starejše učinkovine so bile za posamezne podtipne dokaj neselektivne in so bile najprej vpeljane v terapijo hipertenzije, šele kasneje tudi za lajšanje težav pri BHP. Z uvedbo uroselektivnih novejših antagonistov adrenergičnih receptorjev alfa₁ so izgubile pomen in jih z izjemo terazosina v ATC klasifikaciji za to indikacijo ne zasledimo več. Učinkovine se med seboj ne razlikujejo bistveno po učinkovitosti, pač pa zaradi razlik v selektivnosti v neželenih učinkih, ki so sicer navadno blagi in jih večina bolnikov kljub uporabi ne opazi. Za doksazosin in terazosin so pogostejši znižanje arterijskega krvnega tlaka, utrujenost, vrtoglavice in hipostenija, za tamsulozin pa motnje ejakulacije. Pri zdravljenju z antagonisti receptorjev alfa ne pride do zmanjšanja prostate in preprečitve njene rasti (4, 7-10).

Terazosin, kot klasični predstavnik 4-aminokinazolinskih antagonistov adrenergičnih receptorjev alfa, se lahko uporablja za lajšanje blagih do srednje močnih težav pri BHP pri pacientih, ki lahko prenašajo morebitne neželene učinke na kardiovaskularnem sistemu (hipotenzijo) zaradi neselektivnosti učinkovine za posamezne podtipne receptorjev alfa₁. Strukturno se le malenkostno razlikuje od preostalih starejših antagonistov alfa₁, saj se od prve uporabljene učinkovine prazosina razlikuje le po nasičenem furanskem obroču. Po peroralni aplikaciji se skoraj popolnoma absorbira iz prebavnega trakta, podobno kot ostali predstavniki se v veliki meri, več kot 90 %, veže na plazemske beljakovine in ima biološki razpolovni čas približno 12 ur. Več kot polovica se ga izloči iz organizma z blatom, manj kot 40 % pa z urinom, večinoma v obliki metabolitov. Produkti O-dealkiliranja se lahko nadalje konjugirajo z glukuronsko kislino, produkti N-dealkiliranja pa so strukturno podobni alfuzosinu, saj se odpre piperazinski obroč. Najpogostejši neželeni učinki uporabe terazosina pri BHP so posturalna hipotenzija, utrujenost, vrtoglavice, astenija, glavobol in so redkejši kot pri uporabi učinkovine za zniževanje krvnega tlaka, kjer so tudi odmerki višji (7, 10, 11).

Alfuzosin je novejši predstavnik 4-aminokinazolinskih derivatov, ki se od starejših zdravilnih učinkovin razlikuje po odprtem piperazinskem obroču in posledično manj rigidnem skeletu. Zaradi selektivnega antagonističnega delovanja na alfa₁ receptorjih v spodnjem urinarnem traktu je učinkovina uporabna le za lajšanje simptomov BHP in ima manj izraženo hipotonično delovanje. Biološka uporabnost po peroralni aplikaciji znaša 50-65 %, v nekoliko manjši meri se veže na plazemske beljakovine in ima od vseh opisanih predstavnikov najkrajši biološki razpolovni čas okrog 8 ur. Med metaboličnimi reakcijami znova prevladujeta O- in N-



Slika 1: Strukture antagonistov adrenergičnih receptorjev alfa.
 Figure 1: Structures of alpha-adrenoreceptor antagonists.

dealkiliranje pod vplivom CYP3A4. Neželeni učinki se pojavijo v manj kot 10 % primerov uporabe alfuzosina, najpogosteje kot utrujenost, vrtoglavica, sinusitis, ortostatska hipotenzija (7, 12).

Tamsulozin je 4-sulfamoilfeniletilaminski, silodosin pa indolkarboxamidni selektivni antagonist na α_{1A} podtipu adrenergičnih receptorjev. Učinkovini imata podobne farmakokinetične lastnosti kot ostali antagonisti adrenergičnih receptorjev alfa. Med metaboličnimi reakcijami je zopet najpomembnejše O-dealkiliranje, možne so tudi hidroksilacije na aromatskem obroču, v vsakem primeru pa se fenolne –OH skupine lahko konjugirajo do glukuronidov ali sulfatov. Tamsulozin je edini predstavnik, pri katerem je glavna pot izločanja z urinom (75 %). Neželeni učinki so podobni za obe zdravilni učinkovini. Pojavljajo se glavoboli, motnje ejakulacije, rinitis, astenija, zmanjšan libido, poveča se nagnjenost k infekcijam (8, 13, 14).

3 ZAVIRALCI TESTOSTERON-5-ALFA REDUKTAZE

Moški spolni hormoni (androgeni) imajo ključno vlogo pri razvoju, rasti in delovanju prostate. Povečane vrednosti an-

drogenov med puberteto povzročijo bistvene spremembe tkiva prostate, tudi samo delovanje žleze pri odraslem, je pod nadzorom androgenih hormonov. V parietalnih celicah prostate se testosteron in dihidrotestosteron vežeta na androgenski receptor. Medtem ko je hitrost asociacije za oba hormona primerljiva, dihidrotestosteron z receptorja disocira počasneje. Poleg tega je receptor z vezanim dihidrotestosteronom v konformaciji, ki je bolj rezistentna na proteolizo (15), tako da je dihidrotestosteron v največji meri odgovoren za hormonsko nadzorovanje delovanja prostate.

Glavna vloga 5-alfa reduktaz je, da s pretvorbo testosterona v dihidrotestosteron ojača androgeni signal v tkivih, kjer je encim prisoten, najbolj izrazito je to v tkivih prostate. Z zaviranjem delovanja 5-alfa reduktaze se zmanjša raven dihidrotestosterona s hkratnim povečanjem ravni testosterona. Študije so pokazale, da je porast ravni testosterona v prostati manjši, kot pa je zmanjšana raven dihidrotestosterona v prostati. Upoštevač še manjšo aktivnost testosterona v primerjavi z dihidrotestosteron na celice prostate je skupen učinek zelo zmanjšano delovanje androgenov na prostato (16).

Zaviralci 5-alfa reduktaze za razliko od antagonistov adrenergičnih receptorjev alfa preprečujejo povečanje prostate ali jo lahko celo zmanjšajo. Uporabljajo se pri občutno po-

večani prostati ($> 40 \text{ cm}^3$), izboljšanje pa nastopi z zakasnitvijo, to je v treh do šestih mesecih. Zdravilni učinkovini, ki se uporabljata, sta finasterid in dutasterid, njune glavne značilnosti pa so povzete v Tabeli 1.

Finasterid spada v skupino 4-azasteroidov, po peroralni aplikaciji se ga absorbira do 63 %, 90 % je vezanega na plazemske beljakovine in doseže maksimalno plazemsko koncentracijo v 8 urah. Učinkovina se oksidativno metaboliza pod vplivom citokroma P450 3A4, iz organizma se izloča z blatom (59 %) in z urinom (39 %). Glavni neželeni učinek njegove uporabe je impotenca, ki se pojavi pri 8,1 % pacientov v prvem letu. Kot zanimivost naj navedemo, da se finasterid v odmerku 1 mg na dan uporablja tudi za zdravljenje plešavosti moškega tipa (androgena alopecija) (8, 17).

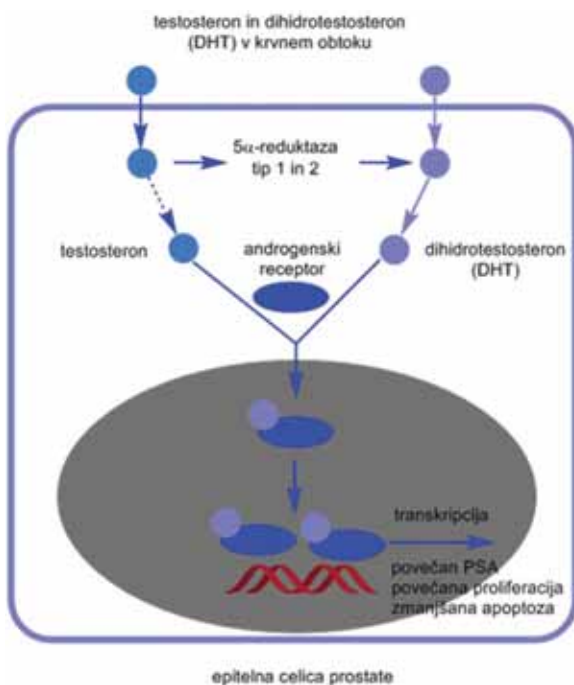
Dutasterid prav tako spada v skupino 4-azasteroidov, razlikuje se po 3,5 bis(trifluorometil)fenilnem substituentu na mestu 17. Absorpcija je primerljiva kot pri finasteridu (60 %), 99 % ga je vezanega na plazemske beljakovine in doseže maksimalno plazemsko koncentracijo po 3 urah. Učinkovina se metabolizira pod vplivom CYP3A4 in CYP3A5, iz organizma pa se izloča večinoma z blatom. Glavni stranski učinek je prav tako impotenca, ki se pojavi pri manjšem številu pacientov (4.7 %) kot pri finasteridu (18).

Tabela 1: Primerjava lastnosti finasterida in dutasterida.

Table 1: Comparison of finasteride and dutasteride properties.

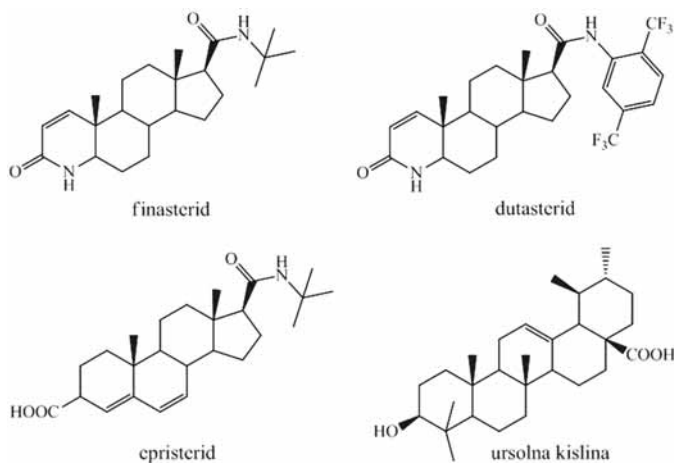
UČINKOVINA	finasterid	dutasterid
Razpolovni čas	6 ur	5 tednov
Biološka uporabnost	65 %	60 %
Vezava na plazemske beljakovine	90 %	99 %
Selektivnost zaviranja 5-AR	tip 2	tip 1 in tip 2
IC ₅₀ – 5-AR tip 1	313 nM	3,9 nM
IC ₅₀ – 5-AR tip 2	11 nM	3,8 nM
Odmerek/dan	5,0 mg	0,5 mg
Znižanje plazemske koncentracije DHT	70 %	90 %

Finasterid in dutasterid se metabolizirata s CYP3A4, posledično lahko zaviralci CYP3A4, kot so ritonavir, ketokonazol, verapamil, diltiazem, cimetidin in ciprofloksacin povečajo plazemsko koncentracijo teh dveh učinkovin. Številne učinkovine z zaviralnim delovanjem na 5-alfa reduktazo (epristerid, izonsterid, lapisterid, turosterid, beklostosterid) so prešle v II ali III fazo kliničnega preizkušanja, vendar v končni fazi niso prišle na tržišče (19). Ursolna kislina je petciklična spojina, rastlinskega izvora z blagim zaviralnim delovanjem na testosteron-5-alfa reduktazo (20).

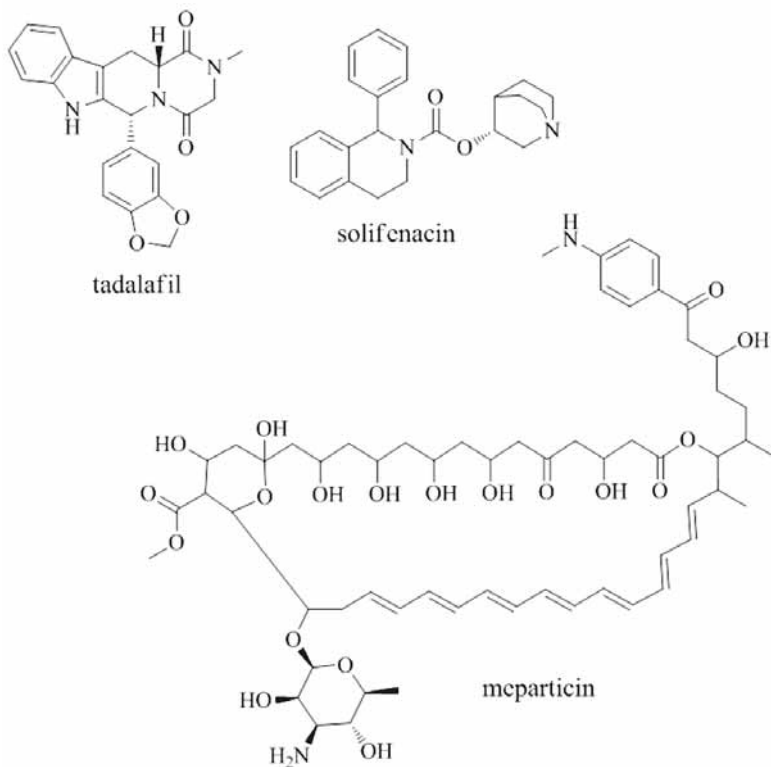
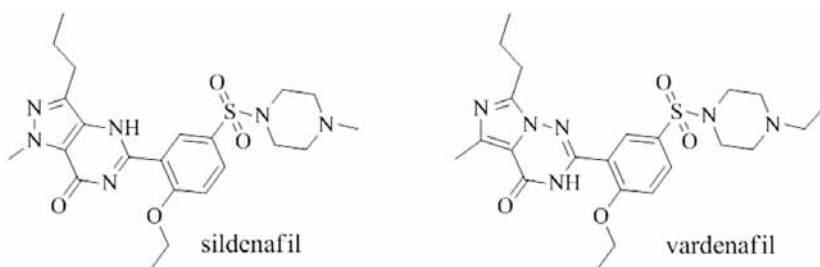


Slika 2: Vloga testosteron-5-alfa reduktaze pri pretvorbi testosterona v dihidrotestosteron.

Figure 2: Role of testosterone-5-alfa reduktaze in transformation of testosterone to dihidrotestosterone.



Slika 3: Strukture zaviralcev testosteron-5-alfa reduktaze.
 Figure 3: Structures of testosterone-5-alpha reductase inhibitors.



Slika 4: Strukture ostalih zdravilnih učinkovin za lajšanje težav pri benigni hiperplaziji prostate.
 Figure 4: Structures of other active ingredients for alleviating symptoms of benign hyperplasia of prostate.

4 KOMBINIRANO LAJŠANJE TEŽAV PRI BENIGNI HIPERPLAZIJI PROSTATE

Za lajšanje težav, povezanih z benigno hiperplazijo prostate se lahko poleg enega zdravila uporablja tudi kombinacija dveh, najpogosteje prej obravnavanih antagonistov adrenergičnih receptorjev alfa in zaviralcev testosteron-5-alfa reduktaze. Rezultati obsežne dvojno slepe, randomizirane študije z oznako MTOPS (Medical therapy of prostatic symptoms) in več kot 3000 sodelujočimi starejšimi moškimi so pokazali, da sta obe skupini zdravil uspešni pri lajšanju simptomov spodnjih sečil, zaradi različnega mehanizma delovanja pa je bila kombinacija še uspešnejša od posameznih zdravil. Nekatero manjše študije, npr. PRE-DICT, prednosti kombinirane terapije niso nedvoumno potrdile (21-23).

Poleg najbolj običajnih kombinacij so relativno pogoste tudi kombinacije antagonistov adrenergičnih receptorjev alfa in antiholinergikov. Antiholinergiki lajšajo simptome pri prekomerno razdraženem sečnem mehurju. Večina spodaj naštetih antiholinergikov je bila preverjena v 12 tednov trajajočih dvojno slepih, randomiziranih kliničnih študijah, kjer so potrdili njihovo učinkovitost in varnost. Na splošno se učinkovine dobro prenašajo, neželeni učinki so redki in navadno blagi in značilni za uporabo antiholinergikov (24). Po ATC klasifikaciji se v skupino G04BD uvrščajo zdravilne učinkovine, ki večinoma delujejo kot antagonisti na muskarinskih receptorjih (izjemi sta starejši in praktično obsoletni meladrazin in novejši mirabegron, ki je agonist adrenergičnih receptorjev beta₃):

<i>G04BD</i>	<i>zdravila za zdravljenje povečane pogostosti uriniranja in inkontinence</i>
<i>G04BD01</i>	<i>emepromium</i>
<i>G04BD02</i>	<i>flavoksat</i>
<i>G04BD03</i>	<i>meladrazin</i>
<i>G04BD04</i>	<i>oksibutinin</i>
<i>G04BD05</i>	<i>terodilin</i>
<i>G04BD06</i>	<i>propiverin</i>
<i>G04BD07</i>	<i>tolterodin</i>
<i>G04BD08</i>	<i>solifenacin</i>
<i>G04BD09</i>	<i>tropium</i>
<i>G04BD10</i>	<i>darifenacin</i>
<i>G04BD11</i>	<i>fezoterodin</i>
<i>G04BD12</i>	<i>mirabegron</i>

5 ZAVIRALCI FOSFODIESTERAZE TIPA 5 (PDE5)

Zaviralci fosfodiesteraze tipa 5 (PDE5), kot so sildenafil, tadalafil, vardenafil se uporabljajo za zdravljenje erektilne disfunkcije. Tadalafil pa je registriran tudi za zdravljenje BHP. Zaviralci PDE5 povečajo znotrajcelično koncentracijo cGMP, kar poveča relaksacijo gladkih mišic in poveča krvni pretok v tkivu. Priporočen enkratni dnevni odmerek tadalafila je 5 mg za zdravljenje BHP. Absorpcija tadalafila variira, 94 % ga je vezanega na plazemske beljakovine, razpolovni čas je 17,5 ur, po metabolizmu s CYP3A4 se večinoma izloči s blatom (61 n%) in v manjšem deležu s urinom (36 %) (25).

6 ZDRAVILNE UČINKOVINE V FAZI KLINIČNIH PREIZKUŠANJ

Topsalizin (*PRX302*) je rekombinantno modificiran bakterijski protein proaerolizin, kjer je naravno mesto hidrolize modificirano, da ga lahko cepi le za prostato specifičen antigen (PSA). Po cepitvi vezi se sprosti C-terminalni peptid, toksin. Sproščeni peptid tvori heptamere, ki se vgradijo v celično membrano in porušijo njeno strukturo, kar vodi do smrti celic prostate. Ključna lastnost topsalizina je, da se lahko aktivira le v prostati in na ta način doseže veliko tkivno specifičnost. Trenutno poteka III faza kliničnih preizkušanj, kjer paciente zdravijo z enkratno intraprostatico injekcijo. V fazi II kliničnih preizkušanj, niso zabeležili erektilne disfunkcije kot neželenega učinka (26).

Mepartricin je polsintezni makrolidni antibiotik, ki se uporablja za lajšanje težav pri benigni hiperplaziji prostate. Mepartricin je v študijah na podganah signifikantno zmanjšal maso prostate in znižal plazemski nivo estradiola, medtem ko bistveno ni vplival na serumske koncentracije testosterona. Uporaba mepartricina je vodila v znižanje ravni izražanja estrogenih receptorjev in zvišanje ravni izražanja adrenergičnih receptorjev beta₂ v prostati. Slednje privede do relaksacije gladkih mišičnih celic prostate (27).

7 REFERENCE

1. Emberton M, Andriole GL, De la Rosette J, et al. Benign prostatic hyperplasia: a progressive disease of aging men. *Urology* 2003; 61: 267-273.
2. Yoshimura K, Ohara H, Ichioka K, et al. Nocturia and benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2003; 61: 786-790.
3. Židanik S. Obravnava bolnikov z benigno hiperplazijo prostate pri zdravnikih splošne medicine. *Zdrav Vestn* 2003; 72: 411-415.
4. Roehrborn CG. Benign prostatic hyperplasia: An overview. *Rev Urol* 2005; 7: S3-S14.
5. Priest R, Garzotto M, Kaufman J, et al. Benign prostatic hyperplasia: A brief overview of pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Tech Vasc Interventional Rad* 2012; 15: 261-264.
6. Praisner A, Chudek J, Szybalska A, et al. Socioeconomic profile of elderly Polish men treated for benign prostate hyperplasia: Results of the population-based PolSenior study. *Eur Geriatr Med* 2014; <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurger.2014.08.004>.
7. AHFS Drug information 2009, American society of health-system pharmacists, ZDA, 2009.
8. Tatro DS, Borgsdorf LR. A to Z drug facts. Wolters Kluwer business, St. Louis, ZDA, 2006.
9. Djavan B, Chapple C, Milani S, et al. State of the art on the efficacy and tolerability of alpha1-adrenoceptor antagonists in patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2004; 64: 1081-1088.
10. Eri LM, Tveter KJ. α -Blokade in the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1995; 154: 923-934.
11. Boyle P, Robertson C, Manski R, et al. Meta-analysis of randomized trials of terazosin in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Adult Urol* 2001; 58: 717-727.
12. McVary KT. Alfuzosin for symptomatic benign prostate hyperplasia: Long-term experience. *J Urol* 2006; 175: 35-42.
13. Marks LS, Gittelman MC, Hill LA, et al. Rapid efficacy of the highly selective α 1A-adrenoceptor antagonist silodosin in men with signs and symptoms of benign prostatic hyperplasia: pooled results of 2 phase 3 studies. *J Urol* 2013; 189: S122-S128.
14. Tršinar B. Tamsulozin - novo zdravilo za zdravljenje benigno hiperplazije prostate. *Zdrav Vestn* 2000; 69: 733-737.
15. Zhou ZX, Lane MV, Kemppainen JA et al. Specificity of ligand-dependent androgen receptor stabilization: receptor domain interactions influence ligand dissociation and receptor stability. *Molecular Endocrinology* 1995; 9: 208-218.
16. Izumi K, Mizokami A, Lin W, et al. Androgen Receptor Roles in the Development of Benign Prostate Hyperplasia. *Am J Pathol* 2013; 182: 1942-1949.
17. Lam JS, Romas NA, Lowe FC. Long-term treatment with finasteride in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia: 10-year follow-up. *Urology* 2003; 61: 354-358.
18. Page ST, Hirano L, Gilchrist J. et al. Dutasteride Reduces Prostate Size and Prostate Specific Antigen in Older Hypogonadal Men With Benign Prostatic Hyperplasia Undergoing Testosterone Replacement Therapy. *J Urol* 2010; 186: 191-197.
19. Sun Z, Wu H, Wang M, et al. The mechanism of epristeride against benign prostatic hyperplasia. *Eur J Pharmacol* 1999; 371: 227-233.
20. Shin I, Lee M, Jung D, et al. Ursolic acid reduces prostate size and dihydrotestosterone level in a rat model of benign prostatic hyperplasia. *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 884-888.
21. McConnell JD. The long-term effect of doxazosine, finasteride and combination therapy on the clinical progression of BPH. *N Engl J Med* 2003; 349: 2387-98.
22. McVary KT. A review of combination therapy in patients with benign prostatic hyperplasia. *Clin Ther* 2007; 29: 387-398.
23. Tršinar B. Kombinirano zdravljenje bolnikov z benigno hiperplazijo prostate. *Zdrav Vestn* 2006; 75: 697-701.
24. Obata J, Matsumoto K, Yamanaka H, et al. Who would benefit from solifenacin add-on therapy to tamsulosin for overactive bladder symptoms associated with benign prostatic hyperplasia? *LUTS* 2013; 5: 145-149.
25. Giuliano F, Ückert S, Maggi M, et al. The Mechanism of Action of Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors in the Treatment of Lower Urinary Tract Symptoms Related to Benign Prostatic Hyperplasia. *Eur Urol* 2013; 63: 506-516.
26. Elhilali MM, Pommerville P, Yocum RC, et al. Prospective, Randomized, Double-Blind, Vehicle Controlled, Multicenter Phase IIIb Clinical Trial of the Pore Forming Protein PRX302 for Targeted Treatment of Symptomatic Benign Prostatic Hyperplasia. *J Urol* 2013; 189: 1421-1426.
27. Wang C, Du X, Yang R, et al. The prevention and treatment effects of tanshinone IIA on oestrogen/ androgen-induced benign prostatic hyperplasia in rats. *J Steroid Biochem* 2014; 145: 28-37.



BENIGNA HIPERPLAZIJA PROSTATE – SI LAHKO POMAGAMO Z ZDRAVILNIMI RASTLINAMI?

BENIGN PROSTATE HYPERPLASIA – CAN THE USE OF MEDICINAL HERBS BE HELPFUL?

AVTOR / AUTHOR:

Doc. dr. Damjan Janeš, mag. farm.

Doc. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo, Aškerčeva cesta 7,
1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: nina.kocevar.glavac@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Uporaba zdravilnih rastlin za samozdravljenje in dopolnilno zdravljenje benigne hiperplazije prostate je zadnja leta v stalnem porastu. Glavni razlog za to so znanstveno podprti

POVZETEK

V članku predstavljamo zdravilne rastline, ki so se v zadnjih letih uveljavile kot učinkovita pomoč pri lajšanju simptomov benigne hiperplazije prostate. S kliničnimi dokazi je najbolj podprta uporaba plodov žagastolistne palme, lubja afriškega pigeja in korenin velike koprive, med novejšimi pa korenike hipoksisisa. V tradicionalni ljudski medicini so se uveljavili zlasti semena navadne buče in zel drobnocvetnega vrbovca. Skupna lastnost naštetih rastlin je vsebnost fitosterolov, ki so glavne učinkovine.

KLJUČNE BESEDE:

benigna hiperplazija prostate, zdravilne rastline

ABSTRACT

This article gives an overview of medicinal plants used for the treatment of benign prostate hyperplasia. Clinical trials support the use of saw palmetto fruits, African pygeum bark, common nettle roots, and recently studied hypoxis rhizome. In traditional folk medicine, the use of pumpkin seeds and small-flower hairy willowherb (*Epilobium*) has been established. Common characteristic of mentioned plants is the content of phytosterols which act as main active molecules.

KEYWORDS:

benign prostate hyperplasia, medicinal plants

dokazi o klinični učinkovitosti, v veliki meri pa je tudi odraz splošno prisotnega trenda vračanja k čim bolj naravnim pristopom zdravljenja (1, 2).

Na evropski ravni je uporaba izdelkov z zdravilnimi rastlinami (zdravil rastlinskega izvora in prehranskih dopolnil) dobro uveljavljena praksa. Sodobna fitoterapija predstavlja v Avstriji in Nemčiji prvo izbiro zdravljenja začetnih stopenj benigne hiperplazije prostate in delež fitofarmakov med vsemi zdravili za zdravljenje te bolezni je kar 90-odstoten. Italija nekoliko zaostaja, delež je 50-odstoten, a še vedno velik (3).

Med dobro poznane zdravilne rastline, s katerimi učinkovito izboljšamo simptome te bolezni, sodijo žagastolistna palma, afriški pigej in velika kopriva (1, 2), kot novejšje odkritje pa se uveljavlja južnoafriška rastlina hipoksis (2). Navadna buča in drobnocvetni vrbovec sta še vedno le del

tradicionalne ljudske medicine, saj njune klinične učinkovitosti še niso nedvoumno potrdili (1).

2 MEHANIZEM DELOVANJA RASTLINSKIH UČINKOVIN

Glavni nosilci učinkov so maščobne kisline in steroidne spojine, zlasti fitosteroli. Delujejo kot inhibitorji 5 α -reduktaze. To je encim, ki v človeškem organizmu pretvarja testosteron v dihidrotestosteron; dihidrotestosteron ima bistveno večjo afiniteto do androgenih receptorjev. Vezava hormona na receptor povzroči aktiven metabolizem celic prostate ter njihovo rast. Drugi mehanizem delovanja obsega zaviranje vezave androgenih hormonov na androgene receptorje, s čimer dosežemo podoben učinek kot z inhibitorji 5 α -reduktaze. Tretji mehanizem pa je zaviranje vezave na adrenergične receptorje α , kar olajša simptome, ki so posledica povečanega tonusa gladkih mišic mehurja in prostate (pogosto uriniranje in bolečine pri uriniranju) (1, 3).

3 MONOGRAFIJE

V nadaljevanju predstavljamo kratke monografije zdravih rastlin, ki jih uporabljamo za zdravljenje in preprečevanje benigne hiperplazije prostate.

Žagastolistna palma

Znanstveno ime: *Serenoa repens* (Bartram) Small. syn. *Serenoa serrulata* (Michx.) G. Nicholson

Družina: *Arecaceae* (palmovke)

Druga imena: palmeto

Rastlinska snov (droga): plod

OPIS

Žagastolistna palma je 2 do 4 m visoka rastlina, ki izvira iz jugovzhoda Združenih držav Amerike. Pahljačasti listi so dolgi 1 do 2 m in so sestavljeni iz 20 lističev, dolgih 50 cm do 1 m. Listni pecelj je prekrit z ostrimi zobci, po katerih je rastlina dobila ime. Drobni beli 4-števni cvetovi se razvijejo v gostih latastih socvetjih in dozoriijo v ovalne rdečkasto črne koščičaste plodove, ki so dolgi 3 cm (4).

SESTAVA

- ogljikohidrati: kislil polisaharid iz 38,4 % galaktoze, 18,7 % arabinoze in 14 % uronskih kislin
- steroidi: β -sitosterol, njegovi glikozidi, acilglikozidi in estri z lavrinsko, miristinsko in palmitinsko kislino
- flavonoidi: izokvercitrin, glikozidi kempferola, roifolin
- maščobne kisline njihovi trigliceridi in etilni estri: kapronska (heksanojska), kaprilska (oktanojska), kaprinska (decanojska), lavrinska, miristinska, oleinska, palmitinska (4)

Učinkovitost plodov žagastolistne palme so potrdile številne klinične študije. Pri proučevanih odmerkih, ki ustrezajo 1 do 2 g plodov na dan, je bila učinkovitost primerljiva s sintezniimi učinkovinami, kot sta finasterid in tamsulozin. Prednost uporabe plodov žagastolistne palme je zlasti v manj izraženih neželenih učinkih. Pomembnih interakcij z drugimi učinkovinami niso dokazali. Zaradi heterogenosti analiziranih dejavnikov v kliničnih študijah, pa je treba poudariti, da so rezultati nekaterih študij nasprotujoči (1-4).



Slika 1. Žagastolistna palma.

Figure 1. Saw palmetto.

Afriški pigej

Znanstveno ime: *Prunus africana* (Hook. f.) Kalkman

Družina: *Rosaceae* (rožnice)

Druga imena: afriška sliva

Rastlinska snov (droga): lubje

OPIS

Afriški pigej je 10 do 25 m visoko vednozeleno drevo, ki naravno upeva v subsaharski Afriki, na Madagaskarju, Sao Tomeju, Bioku (Fernando Po) in Komorih. Drevo ima temnorjavo ali črno lubje, ki razpoka v značilnem vzorcu pra-

vokotnikov. Eliptični listi so dolgi 8 do 20 cm, na zgornji ploskvi temnozeleni, na spodnji ploskvi svetlozeleni. Zele-nobeli 5-števni cvetovi se razvijejo v grozdastih socvetjih in dozoriijo v rdeče ali rjave okrogle plodove, ki imajo premer 7 do 13 mm in vsebujejo po dve semeni (4).

SESTAVA

- steroidi: β -sitosterol (0,35-0,58 %), β -sitosteron (0,12-0,26 %)
- maščobni alkoholi: dokožanol (0,0010- 0,0028 % = 10-28 ppm), tetrakožanol
- triterpenoidi: ursolna (0,032-0,2 %), oleanolna in krategolna kislina, njihovi estri s ferulno kislino
- fenolkarboksilne kisline: atrarna (4, 5)

Učinkovitost lubja afriškega pigeja so dokazali v kliničnih študijah, v katerih so preiskovanci uživali odmerke, ki so ustrezali masi 10 do 20 g lubja dnevno (3, 4). V primerjavi z žagastolistno palmo je teh raziskav bistveno manj. Zaradi pretiranega sekanja dreves je afriški pigej danes močno ogrožen in je na seznamu ogroženih rastlinskih vrst, zato je na trgu zdravil naravnega izvora vedno bolj redek (1-4).



Slika 2: Afriški pigej.
Figure 2: African pygeum.

Velika kopriva

Znanstveno ime: *Urtica dioica* L.
Družina: Urticaceae (koprivovke)
Druga imena: navadna kopriva
Rastlinska snov (droga): korenina

OPIS

Velika kopriva je 30 cm do 2 m visoka dvodomna trajnica, ki raste v vlažnih gozdovih, na neobdelanih tleh in v bližini naselij. Rastlina je pokrita z žgalnimi ščetinastimi dlačicami. Listi so nasprotno nameščeni, jajčasto-suličasti, imajo srčasto dno, zoženo konico in grobo žagasto nazobčan listni rob. Junija do oktobra se v klasastih moških in ženskih socvetjih, ki so večinoma daljša kot peclji bližnjih lističev, razvijejo neizraziti cvetovi in dozoriijo v koničasto-jajčaste enosemenske oreške (4).

KORENINA

- lektini (0,05-0,3 %)
- steroidi: β -sitosterol (0,029-0,064 %), 7β -hidroksisito-sterol (0,001 % = 10 ppm), njuni estri in glikozidi
- triterpenoidi: oleanolna kislina (0,002 % = 20 ppm)
- fenilpropanoidi: homovanilalkohol (0,002 % = 20 ppm) in njegov glukozid
- lignani (0,04 %)
- kumarini: skopoletin (0,0003-0,003 % = 3-30 ppm) (4, 5)

Zaradi šibkejšega učinka izvlečke korenin velike koprive pogosto kombiniramo z izvlečki plodov žagastolistne palme in/ali lubja afriškega pigeja. Učinkovitost so dokazali v kliničnih študijah, v katerih so preiskovanci prejeli dnevne odmerke, ki so ustrezali 4 do 6 g suhih korenin (1, 3, 4).



Slika 3: Velika kopriva.
Figure 3: Common nettle.

Hipoksis

Botanično ime: *Hypoxis hemerocallidea* Fisch. Mey. & Avé-Lall. syn. *Hypoxis rooperi* Moore
Družina: Hypoxidaceae
Rastlinska snov (droga): korenika

OPIS

Hipoksis je do 50 cm visoka trajnica, ki izvira iz vzhodnih predelov Južne Afrike. Rastlina ima suličaste liste, ki izraščajo iz talne rozete v obliki pahljače. Listi so srpasto ukrivljeni in so prekrti z nežnimi dlačicami. Zvezdasti rumeni cvetovi se razvijejo v pokončnih grozdastih socvetjih na koncu stebela. Ima močno odebeljeno koreniko, ki spominja na gomolj krompirja, zato jo ponekod nepravilno imenujejo afriški krompir (4).

SESTAVA

- norlignani: hipoksozid, rooperol, niasol, niasozid
- steroidi: β -sitosterol, β -sitosterilglukozid
- flavonoidi: kvercetin
- fenolkarboksilne kisline: kavna, *p*-kumarna (4)

Hipoksis je dokaj neznana zdravilna rastlina s kar nekaj kliničnimi študijami, ki so dokazale učinkovitost njegovih izvlečkov pri benigni hiperplaziji prostate. Dnevni odmerki izvlečka, ki so jih proučevali, so vsebovali 60 mg fitosterolov (2, 6).



Slika 4: Hipoksis.

Figure 4: Hypoxis.

Navadna buča

Botanično ime: *Cucurbita pepo* L.
Družina: Cucurbitaceae (bučevke)
Rastlinska snov (droga): seme

OPIS

Buča je enoletna plazeča rastlina, ki požene do 10 m dolge poganjke. Njen koreninski sistem je močno razvit in lahko seže tudi do 6 m globoko. Listi so deljeni v 5 krp. Cveti od junija do septembra z velikimi rumenimi cvetovi, ki so sestavljeni iz 5 majhnih čašnih in 5 velikih venčnih listov zlatorumene barve. Plodovi sodijo med največje, kar jih najdemo v rastlinskem svetu. Botanično jih imenujemo pepo ali preprosto buče in jih uvrščamo med jagode. Vsebujejo lahko do 400 ploščatih semen, ki so zelene ali rjavozelene barve in so dolga 7 do 15 mm. Buče najverjetneje izvirajo iz Mehike, danes pa so s številnimi različnimi sortami ena od najbolj priljubljenih vrst zelenjave (4).



Slika 5: Navadna buča.

Figure 5: Pumpkin.

SESTAVA

- steroidi (1 %): Δ^5 -steroli (β -sitosterol, stigmasterol, kampesterol, klerosterol, kodisterol, izofukosterol in sorodne spojine), Δ^7 -steroli (spinasterol, hondilasterol, peposterol, dehidrohondilasterol, avenasterol, izoavenasterol, episterol in sorodne spojine) in Δ^8 -steroli (derivati etilholestana)
- maščobno olje (35-53 %): palmitinska kislina (14-15 %), stearinska kislina (2-7 %), oleinska kislina (15-48 %), linolna kislina (35-68 %), α -linolenska kislina (0,2-5 %), arahidonska kislina (0,3 %) (4)

Semena buče sodijo med najbolj znana tradicionalna rastlinska zdravila za zdravljenje benigne hiperplazije prostate. Poudariti je treba, da je uživanje bučnih semen (10 do 30 g na dan) bistveno bolj učinkovito kot uživanje čistega bučnega olja. Znano je, da je v semenih prisoten tudi cink, ki naj bi prispeval k zaviranju rasti prostate (1-4).

Drobnocvetni vrbovec

Znanstveno ime: *Epilobium parviflorum* L. Schreb.

Družina: Onagraceae (svetlinovke)

Druga imena: ozkolistno ciprje

Rastlinska snov (droga): zel

OPIS

Drobnocvetni vrbovec je 20 cm do 80 m visoka trajnica, ki raste ob potokih, robovih gozdov, nasipališčih. Suličasti listi so nameščeni nasprotno, imajo drobno nazobčan listni rob in so porasli z mehкими dlačicami. Stebla so štrleče dlakava. Bledo rožnati 4-števni cvetovi se razvijajo v kobulih, imajo 4 do 9 mm širok lijakast venec. Plod je 3 do 7 cm dolga glavica, ki vsebuje drobna črna semena (4).

SESTAVA

- flavonoidi (1,5 %): flavonolni glikozidi
- steroidi (0,55 %): β -sitosterol, β -sitosterilkapronat, β -sitosterilkaprilat, β -sitosterilcapinat, β -sitosteril- β -D-glukozid, β -sitosterilpalmitat, β -sitosteril-6'-O-palmitoil- β -D-glukozid, β -sitosterilpropionat, β -sitosteril-6'-O-stearil- β -D-glukozid (4)



Slika 6: Drobnocvetni vrbovec.

Figure 6: Smallflower hairy willowherb.

Znanstveni podatki o učinkih drobnocvetnega vrbovca proti benigni hiperplaziji prostate so zelo skopi. Uporaba te zdravilne rastline v celoti temelji na izkušnjah uporabe v tradicionalni ljudski medicini (4, 7).

4 SKLEP

Pri zdravljenju benigne hiperplazije prostate lahko zdravila naravnega izvora predstavljajo pomembno alternativo sinteznim učinkovinam. Njihova bistvena prednost je zlasti v manj izraženih neželenih učinkih. Pred uporabo tovrstnih zdravil pa se moramo vedno prepričati, da je hiperplazija prostate pri bolniku res benignega značaja.

5 LITERATURA

1. Kreft S, Kočevar Glavač N. Sodobna fitoterapija. Z dokazi podprta uporaba zdravilnih rastlin. Slovensko farmacevtsko društvo, 2013: 356-376.
2. Schulz V, Hänsel R, Blumenthal M, Tyler VE. Rational Phytotherapy. A Reference Guide for Physicians and Pharmacists, Fifth Edition. Springer-Verlag, 2004: 295-308.
3. Pagano E, Laudato M, Griffo M, Capasso R. Phytotherapy of benign prostatic hyperplasia. A minireview. *Phytother Res* 2014; 28 (7): 949-955.
4. Blaschek W, Ebel S, Hilgenfeldt U, Holzgrabe U, Reichling, Schulz V. HagerROM 2008 – Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2008.
5. Veitch NC, Smith M, Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicines, Fourth edition. Pharmaceutical Press, 2013.
6. Drewes SE, Elliot E, Khan F, Dhlamini JT, Gcumisa MS. Hypoxis hemerocallidea - not merely a cure for benign prostate hyperplasia. *J Ethnopharmacol* 2008; 119 (3): 593-598.
7. Granica S, Piwowarski JP, Czerwińska ME, Kiss AK. Phytochemistry, pharmacology and traditional uses of different *Epilobium* species (Onagraceae): A review. *J Ethnopharmacol* 2014; 156C: 316-346.

VARNI IN UČINKOVITI: NOVA SPOZNANJA O IZVLEČKIH ŠENTJANŽEVKE (*HYPERICUM PERFORATUM*)

SAFE AND EFFECTIVE: NEW RESEARCH AND EXPERIENCE WITH ST. JOHN'S WORT (*HYPERICUM PERFORATUM*) EXTRACT

AVTOR / AUTHOR:

Prof. dr. Samo Kreft, mag. farm.

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

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: samo.kreft@ffa.uni-lj.si

V članku izražam svoja osebna strokovna stališča, ki niso nujno tudi stališča organizacij v katerih delujem: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Katedra za farmacevtsko biologijo (predstojnik katedre); Odbor za zdravila rastlinskega izvora (HMPC) pri Evropski agenciji za zdravila (namestnik delegata); JAZMP, Komisija II (podpredsednik).

POVZETEK

Šentjanževka (*Hypericum perforatum*) je priljubljena in zelo raziskana zdravilna rastlina. Poleg njene učinkovitosti sta v strokovni javnosti znani tudi njeni problematiki glede interakcij in glede fototoksičnosti. V članku navajamo novejša raziskave in izkušnje, ki ti dve nevarnosti precej relativizirajo. Pri večjih odmerkih je kontraindicirana le sočasna raba imunosupresivov, nekaterih zdravil za terapijo infekcij s HIV in raka ter varfarina. Pri sočasni rabi ostalih zdravil, ki se presnavljajo s citokromom P450 3A4, zadošča opozorilo. Pri interakciji s peroralnimi kontraceptivi je raven dokazov, ki nakazuje na to možnost, zelo majhna. Pri nižjih odmerkih šentjanževke, ki se uporabljajo za lajšanje blažjih simptomov, nevarnosti interakcije niso klinično pomembne. Fototoksičnost oz. povečana občutljivost kože na UV žarke se ne pojavlja niti pri odmerkih, ki so 10-krat večji od terapevtskih.

KLJUČNE BESEDE:

šentjanževka, interakcije, fototoksičnost

ABSTRACT

St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) is a popular and highly investigated medicinal plant. Health care professionals know this plant for its efficacy but also for the issues regarding interaction and phototoxicity. In the article, we present recent research and experience that decrease the importance of these two issues. At higher doses, it is only contraindicated in concomitant use of immunosuppressive medications, certain drugs for the treatment of HIV infection and treatment of cancer, and warfarin. In concomitant use of other drugs that are metabolized by cytochrome P450 3A4, a warning is sufficient. As far as the interaction with oral contraceptives is concerned, the level of evidence that suggests this possibility is very low. At lower doses of St. John's wort, which are used to relieve mild symptoms, the risk of interactions is not clinically significant. Phototoxicity or increased skin sensitivity to UV rays does not occur even at doses 10 times higher than therapeutic.

KEYWORDS:

St. John's Wort, interactions, phototoxicity



1 UVOD

Šentjanževka je zdravilna rastlina z dolgo tradicijo uporabe tako v okviru ljudskega zeliščarstva, zadnjih nekaj desetletij pa tudi v okviru sodobne fitoterapije. Šentjanževka je ena od najbolj temeljito in vsestransko raziskanih zdravilnih rastlin. Bibliografska baza Pubmed vsebuje 2216 znanstvenih člankov, med katerimi je 211 kliničnih raziskav. Nekaj pomembnih kamenčkov v mozaik tega znanja smo prispevali tudi raziskovalci ljubljanske Fakultete za farmacijo (1–4). Če se pri kliničnih raziskavah omejimo samo na najpomembnejšo indikacijo (depresivne motnje) in na najkakovostnejše raziskave (randomizirane, dvojno slepe, z dobro definiranimi kliničnimi izidi), lahko najdemo 37 raziskav, ki ustrezajo tem kriterijem (5).

Poleg peroralne uporabe proti depresiji šentjanževko uporabljamo tudi zunanje za »simptomatsko zdravljenje manjših vnetij kože (npr. pri sončnih opeklinah) in za pomoč pri celjenju manjših ran«, kar pa ni podprto s kliničnimi študijami (15). V tem članku bomo obravnavali samo peroralno uporabo, zunanja uporaba pa je bila opisana v nedavnem preglednem članku (38), v katerem ugotavljajo, da je tudi tak način uporabe varen, da ne prihaja do interakcij, fototoksičnost pa je problematična le izjemoma (poškodovana koža, občutljivi posamezniki).

2 VARNOST

Kar se tiče varnosti, so pri šentjanževki vredne pozornosti predvsem interakcije z ostalimi zdravili, kajti neželeni učinki niso pogosti in so blagi.

2.1 INTERAKCIJE

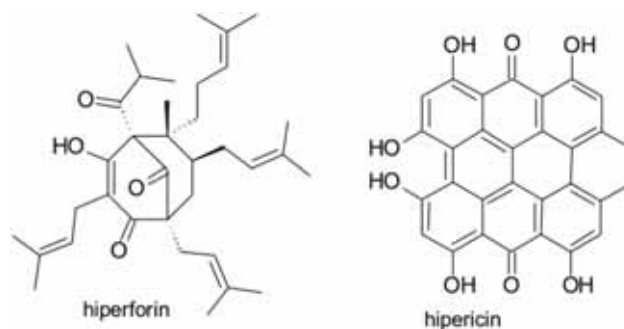
Za šentjanževko bi lahko rekli, da je rastlina, pri kateri so interakcije z drugimi zdravili najbolj izrazite med vsemi rastlinami. Zanimivo je, da kljub množični uporabi šentjanževke, za vse te interakcije še pred dobrimi 10 leti nismo vedeli. Evropska agencija za zdravila je med prvimi že leta 2000 podala izjavo o nevarnosti interakcij šentjanževke z nekaterimi protivirusnimi zdravili (indinavir)(6), o problematiki

pa je bila v kratkem temeljito obveščena tudi slovenska strokovna javnost (7–10).

Od takrat se je nabralo kar nekaj novih spoznanj o interakcijah šentjanževke. Ker se je v delu stroke zasedrilo prepričanje, da je pri hkratni uporabi drugih zdravil šentjanževko najbolje kar odsvetovati, je čas, da predstavimo ta nova spoznanja, in interakcije šentjanževke postavimo v pravi kontekst.

Šentjanževka v telesu inducira nastajanje encimov iz skupine citokromov P450 ter transmembranskega prenašalca glikoproteina P. Izmed različnih izoform se najbolj inducira CYP3A4 (do 140 %), manj izoforma CYP2E1 (do 28 %), šentjanževka pa naj ne bi inducirala izoform CYP1A2 in CYP2D6 (11, 12). Aktivnost encimov se povrne na normalno raven v 1 tednu po prenehanju jemanja šentjanževke. Do interakcij torej lahko pride ob hkratni uporabi šentjanževke in zdravil, ki se presnavljajo z navedenimi izoformami citokromov P450 ali prenašajo z glikoproteinom P (13).

Za indukcijo citokromov in glikoproteina P je odgovoren hiperforin (slika 1). Različni izvlečki iz šentjanževke vsebujejo zelo različne količine hiperforina. Njegova vsebnost lahko variira za faktor več kot 10 (od 0,6 do 6,3 %), deloma zaradi variabilne vsebnosti v drogi, deloma pa zaradi različnih uporabljenih topil. Zdravila na evropskem tržišču večinoma vsebujejo izvlečke, pripravljene s 60-odstotnim etanolom, ki imajo od 1,5 do 2,5 % hiperforina (14). Izvlečki, pripravljene s 80-odstotnim etanolom, pa lahko vsebujejo do 6 % hiperforina (15). Evropska farmakopeja predpisuje za kvantificirane suhe izvlečke šentjanževke največjo dovoljeno vsebnost hiperforina 6 % oz. ne več, kot proizvajalec navede na izdelku. Izvlečki z nizko vsebnostjo oziroma nizki



Slika 1: Strukturni formuli hiperforina in hipericina
Figure 1: Structural formulas of hyperforin and hypericin

odmerki (pod 1 mg hiperforina dnevno) ne povzročajo indukcije (15, 16). Hiperforin, ki je kriv za interakcije, po drugi strani tudi pomembno prispeva k antidepressivni učinkovitosti izvlečkov šentjanževke, zato njegova vsebnost v zdravilih ne sme biti premajhna. Za učinkovite so se izkazali že izvlečki z 1-odstotno vsebnostjo in pri njih interakcije še niso opazne (17).

Pomembne so predvsem interakcije šentjanževke s tistimi zdravili, ki se presnavljajo z navedenimi encimi, poleg tega pa imajo ozko terapevtsko širino in je izostanek v njihovem učinku usoden. Take pomembne interakcije so npr. z imunosupresivi (ciklosporin, takrolimus), zdravili proti virusu HIV (amprenavir, indinavir) in nekaterimi zdravili proti raku (irinotekan) ter varfarinom. Zaradi indukcije citokromov in glikoproteina P pride do znižanja koncentracije ciklosporina v krvi za 33 do 67 %. Koncentracija je prenizka za doseganje učinka in lahko pride do zavrnitve presajenega organa. V nekaj tednih po prenehanju jemanja šentjanževke se spet vzpostavi začetna koncentracija ciklosporina v krvi (18, 19). Do interakcije prihaja tudi s takrolimusom. Z raziskavo na zdravih prostovoljcih so dokazali, da se pri hkratnem jemanju pripravkov iz šentjanževke biološka uporabnost takrolimusa zmanjša za 35% (20).

Jemanje pripravkov iz šentjanževke je pri zdravih prostovoljcih zmanjšalo biološko uporabnost indinavirja, zaviralca HIV-1-proteaze za 54% (21). Pri sočasni uporabi irinotekana in šentjanževke (900 mg dnevno, 14 dni, tip pripravka ni naveden) so ugotovili 42-odstotno zmanjšanje plazemske koncentracije aktivnega presnovka irinotekana.

Možnost interakcij obstaja tudi z nekaterimi statini (simvastatin, lovastatin, cerivastatin in atorvastatin), ki se presnavljajo s citokromom P450 3A4 (22), ne pa s pravastatinom, ki se ne presnavlja z encimi, ki jih šentjanževka inducira. Sočasna uporaba šentjanževke (900 mg dnevno, 14 dni) je znižala plazemske koncentracije simvastatina za 28 % (40). Pri sočasni uporabi šentjanževke (600 mg dnevno, 28 dni) in atorvastatina so ugotovili 14-odstotno povišanje holesterola LDL v primerjavi s samostojno uporabo atorvastatina (41).

Če pripravke iz šentjanževke dajemo skupaj s selektivnimi zaviralci privzema serotonina (SSRI) (sertralin, paroksetin) ali zaviralci privzema serotonina in noradrenalina (nefazodon), lahko pride do serotoninskega sindroma (13, 37).

Po nekaterih podatkih naj bi obstajala tudi nevarnost interakcij šentjanževke s peroralnimi kontraceptivi, ki so prav tako substrat za citokrom P450 3A4. Ta interakcija je izmed vseh najbolj kontroverzna. Znižanje serumskih koncentracij učinkovin peroralnih kontraceptivov so ugotovili v mnogih (23–25), vendar ne vseh raziskavah (spet v odvisnosti od vsebnosti hiperforina). Težje pa je vprašanje glede kliničnega pomena te spremenjene farmakokinetike. Biološka uporabnost učinkovin iz peroralnih kontraceptivov se je ob hkratni uporabi šentjanževke večinoma znižala za 20 do 30 %. Majhen klinični pomen takega znižanja lahko vidimo iz pravila, da se dve zdravili, ki se po biološki uporabnosti razlikujeta za 20 %, štejeta za bioekivalentni (26). Serumska koncentracija učinkovin iz peroralnih kontraceptivov pa se med posameznicami, ki uporabljajo isto zdravilo, razlikuje celo za 92 % (27). V literaturi navajajo nekaj primerov nenačrtovane nosečnosti pri sočasnem jemanju šentjanževke in kontraceptivov (18, 28), vendar pa v teh primerih ni bilo mogoče izključiti, da ni do nosečnosti prišlo zaradi izpuščenih odmerkov. Poleg tega zanesljivost peroralne kontracepcije tudi pri z navodili skladnem jemanju ni 100-odstotna. Ocenjujejo, da pri tipični uporabi peroralne kontracepcije pride do nenačrtovane nosečnosti v enem letu pri 9 %, pri z navodili skladni uporabi pa pri 0,3 % uporabnic (29).

Vmesne krvavitve (ovulacijske krvavitve, metroragija), ki jih pri interakciji šentjanževke s peroralnimi kontraceptivi smatrajo kot kazalec zmanjšanja učinkovitosti peroralnih kontraceptivov, so po drugi strani pogost neželeni učinek že pri sami uporabi peroralne kontracepcije brez hkratne uporabe šentjanževke (30, 31). Vmesna krvavitev pa ni nujno znak zmanjšanja učinka kontracepcije. Več raziskav je sicer res pokazalo, da se je pogostost vmesnih krvavitev povečala ob hkratni uporabi šentjanževke, vendar pa to ni vplivalo na zorenje foliklov, na debelino endometrija niti na serumske koncentracije estradiola in progesterona (23–25).

Do sedaj še niso ugotovili, da bi obstajala vzročna povezava med nenačrtovano nosečnostjo in hkratno uporabo šentjanževke in peroralnih kontraceptivov. Če upoštevamo, da so bile ženske s peroralno kontracepcijo vključene v skoraj vse klinične študije s šentjanževko in pri njih niso ugotovili nenačrtovanih nosečnosti, lahko sklepamo, da je verjetnost interakcije zelo majhna.

2.2 NEŽELENI UČINKI

V kliničnih raziskavah so se pokazali kot najpogostejši naslednji neželeni učinki: prebavne težave (0,6 %), alergijske



reakcije (0,5 %), utrujenost (0,4 %) in nemirnost (0,3 %) (33). Le v nekaj raziskavah so te neželene učinke primerjali z neželenimi učinki placeba in v teh primerih ni bilo razlike v pogostosti. Vsekakor pa so neželeni učinki šentjanževke bistveno manjši kot pri ostalih antidepresivih. Pri inhibitorjih ponovnega prevzema serotonina je namreč njihova pogostost med 20 in 50 % in vključuje tudi resne neželene učinke, kot so anoreksija, spolna disfunkcija, motnja vida, palpitacija, alopecija in samomorilno obnašanje (15, 42, 43, 44).

2.3 FOTOTOKSIČNOST

Fototoksičnost šentjanževke (hipericizem) je že dolgo znana iz veterine. Živalim, ki so se pasle v šentjanževki in so bile kasneje izpostavljene močnemu soncu, so se na neporaščenih delih kože pojavili eritemi. Živali dnevno povprečno zaužijejo suhe mase krme za 2 % njihove mase, medtem ko pri človeku maksimalni terapevtski odmerek šentjanževke (ekvivalent 10 g droge) predstavlja le 0,02 % njegove mase. Pri ljudeh torej takih težav niso opazili, dokler pa niso opravili ustreznih raziskav, jih tudi ni bilo mogoče povsem izključiti. Sedaj imamo podatke iz več raziskav, v katerih so zdravi prostovoljci prejeli velike odmerke izvlečkov šentjanževke (do 10-krat večje od terapevtskih), nato pa so jih obsevali s svetlobo različnih valovnih dolžin in simulirano sončno svetlobo. V nobenem primeru niso ugotovili povečane občutljivosti kože (15, 34–36). Farmakološke raziskave na izoliranih keratinocitih so pokazale, da je za fototoksičnost odgovoren hipericin (Slika 1). Hipericin absorbira svetlobo in zaradi prejete energije preide v vzbujeno stanje, energijo nato prenese na molekulo kisika, ki se s tem pretvori v singletni kisik, po prenosu elektrona pa še v superoksidni radikal in ostale reaktivne kisikove zvrsti (45). Za fototoksičnost je potrebna koncentracija 1000 ng/ml hipericina, medtem ko so koncentracije v plazmi pri terapevtski uporabi 70-krat nižje, v koži pa 300-krat nižje (15).

3 SKLEP

Zdravila, ki vsebujejo izvlečke šentjanževke, so zaradi svoje učinkovitosti pomembna zdravila v terapiji depresij. Pri večjih odmerkih, katerih učinkovitost za zdravljenje blagih do zmernih depresivnih epizod je dokazana z množico kliničnih študij, se teh zdravil ne sme uporabljati hkrati z imunosupresivi, terapijo HIV, irinotekanom in varfarinom. Pri

nižjih odmerkih zdravil, ki se uporabljajo za lajšanje blažjih simptomov, nevarnosti interakcije niso klinično pomembne. Raziskave niso potrdile fototoksičnosti niti pri odmerkih, ki so 10-krat večji od terapevtskih.

4 REFERENCE

1. Kokalj M, Kolar J, Trafela T, Kreft S. Differences among *Epilobium* and *Hypericum* species revealed by four IR spectroscopy modes: transmission, KBr tablet, diffuse reflectance and ATR. *Phytochem Anal.* 2011; 22; 541-546.
2. Umek A, Kreft S, Kartnig T, Heydel B. Quantitative phytochemical analyses of six *hypericum* species growing in Slovenia. *Planta Med.* 1999; 65; 388-390.
3. Germ M, Stibilj V, Kreft S, Gaberščik A, Kreft I. Flavonoid, tannin and hypericin concentrations in the leaves of *St. John's wort* (*Hypericum perforatum* L.) are affected by UV-B radiation levels. *Food chemistry*, 2010; 122; 471-474.
4. Germ, M, Stibilj, V, Kreft, S, Gaberščik, A, Pajk, F, Kreft, I. Selenium concentration in *St. John's wort* (*Hypericum perforatum* L.) herb after foliar spraying of young plants under different UV-B radiation levels. *Food chemistry*, 2009; 117; 204-206.
5. Linde K, Mulrow CD, Berner M, Egger M. *St John's Wort for depression (Review) 2008 The Cochrane Collaboration.*
6. EMEA, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Evaluation of Medicines for Human Use. EMEA public statement on the risk of drug interactions with *Hypericum perforatum* (*St. John's wort*) and antiretroviral medicinal products. London: EMEA/6321/00, 28 February, 2000.
7. Kreft S, Doljak B, Mlinarič A. Interakcije zdravil rastlinskega izvora z ostalimi zdravili. v.: *Interakcije kontraceptivov in zdravil, ki se uporabljajo pri hormonskem nadomestnem zdravljenju* (ur.: ObrezaA; Vovk T); Ljubljana, Fakulteta za farmacijo, 2008.
8. Mlinarič A, Kac J: *Interakcije učinkovin v grenivki in šentjanževki z zdravili: Lekarništvo* 2004; 32; 56-58.
9. Kac J, Mlinarič A, Umek A: *Interakcije med zdravilnimi rastlinami in zdravili: Farmacevtski vestnik.* 2004; 55; 453-459.
10. Kac J, Mlinarič A: *Pomembne interakcije nekaterih zdravilnih rastlin z zdravili. Zdravniški vestnik* 2004; 73; 667-671.
11. Gurley BJ, Swain A, Hubbard MA, Williams DK, Barone G, Hartsfield F, Tong Y, Carrier DJ, Cheboyina S, Battu SK. *Clinical assessment of CYP2D6-mediated herb-drug interactions in humans: Effects of milk thistle, black cohosh, goldenseal, kava kava, St. John's wort, and Echinacea. Mol Nutr Food Res.* 2008
12. Gurley BJ, Gardner SF, Hubbard MA, Williams DK, Gentry WB, Cui Y, Ang CY. *Clinical assessment of effects of botanical supplementation on cytochrome P450 phenotypes in the elderly: St John's wort, garlic oil, Panax ginseng and Ginkgo biloba. Drugs Aging.* 2005; 22; 525-539.
13. Izzo AA, Ernst E. *Interactions between herbal medicines and prescribed drugs: a systematic review. Drugs* 2001; 61; 2163–2175.
14. Wurglics M, Westerhoff K, Kaunzinger A, Wilke A, Baumeister A, Dressman J, Schubert-Zsilavec M. *Comparison of German St. John's wort products according to hyperforin and total hypericin content. J Am Pharm Assoc (Wash).* 2001; 41; 560-566.

15. European Medicines Agency: Assessment report on *Hypericum perforatum* L., herba; 2009; http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPC_assessment_report/2010/01/WC500059144.pdf
16. Mai, I., Bauer, S., Perloff, E.S., John, A., Uehleke, B., Frank, B., Budde, K., Roots, I. Hyperforin content determines the magnitude of the St. John's wort – cyclosporine drug interaction. *Clin Pharmacol Ther.* 2004; 76; 330-340.
17. Madabushi R, Frank B, Drewelow B, Derendorf H, Butterweck V. Hyperforin in St. John's wort drug interactions. *Eur J Clin Pharmacol.* 2006; 62; 225-233.
18. Henderson L, Yue QY, Bergquist C, Gerden B, Arlett P. St. John's wort (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 54: 349–356.
19. Moschella C, Jaber BL. Interaction between cyclosporine and *Hypericum perforatum* (St. John's wort) after organ transplantation. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 1105–1107.
20. Hebert MF, Park JM, Chen YL, Akhtar S, Larson AM. Effects of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) on tacrolimus pharmacokinetics in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 2004; 44: 89–94.
21. Piscitelli SC, Burstein AH, Chait D, Alfaro RM, Falloon J. Indinavir concentrations and St. John's wort. *Lancet* 2000; 335: 547–8. Erratum in: *Lancet* 2001; 357: 1210.
22. Mlinarič A. Interakcije hipopilemikov z učinkovinami naravnega izvora. *Farm Vestn* 2003; 54: 694–694.
23. Pfrunder A, Schiesser M, Gerber S, Haschke M, Bitzer J, Drewe J. Interaction of St John's wort with low-dose oral contraceptive therapy: a randomized controlled trial. *Br J Clin Pharmacol.* 2003; 56; 683-690.
24. Hall SD, Wang Z, Huang SM, Hamman MA, Vasavada N, Adigun AQ, Hilligoss JK, Miller M, Gorski JC. The interaction between St John's wort and an oral contraceptive. *Clin Pharmacol Ther.* 2003; 74; 525-535.
25. Murphy, P.A., Kern, S.E., Stanczyk, F.Z., Westhoff, C.L. Interaction of St. John's wort with oral contraceptives: effects on the pharmacokinetics of norethindrone and ethinyl estradiol, ovarian activity and breakthrough bleeding. *Contraception.* 2005; 71; 402-408.
26. European Medicines Agency. Guideline on the investigation of bioequivalence. Doc. Ref.: CPMP/EWP/QWP/1401/98, London, 20 January 2010.
27. Zeun S, Lu M, Uddin A, Zeiler B, Morrison D, Blode H. Pharmacokinetics of an oral contraceptive containing oestradiol valerate and dienogest. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2009; 14; 221-232.
28. Murphy PA. St. John's wort and oral contraceptives: reasons for concern? *J Midwifery Womens Health* 2002; 47: 447–450.
29. Division of Reproductive Health, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). »U.S. Selected practice recommendations for contraceptive use, 2013: (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6205a1.htm>)
30. SmPC Cilest 0,25 mg/0,035 mg tablete, (datum zadnje revizije besedila 12. 12. 2008), <http://si.draagle.com/>, datum dostopa: 28.6.2014.
31. SmPC Qlaira filmsko obložene tablete, (datum zadnje revizije besedila 08.10.2010), <http://si.draagle.com/>, datum dostopa: 28.6.2014.
32. SmPC Logest 0,02 mg/0,075 mg obložene tablete, (datum zadnje revizije besedila 12.10.2007), <http://si.draagle.com/>, datum dostopa: 28.6.2014.
33. Greeson, J.M., Sanford, B., Monti, D.A. St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology.* 2001; 153; 402-414.
34. Schempp CM, Winghofer B, Muller K, Schulte-Monting J, Mannel M, Schopf E, Simon JC. Effect of oral administration of *Hypericum perforatum* extract (St. John's Wort) on skin erythema and pigmentation induced by UVB, UVA, visible light and solar simulated radiation. *Phytother Res.* 2003; 17; 141-146.
35. Schulz HU, Schürer M, Bässler D, Weiser D. Investigation of the effect on photosensitivity following multiple oral dosing of two different *Hypericum* extracts in healthy men. *Arzneimittelforschung.* 2006; 56; 212-221.
36. Köppel H, Naser B, Schulz HU, Kibbel T, Schürer M, Liske E. Investigation of the effect on photosensitivity following repeated oral dosing of *Hypericum* extract in 20 healthy male and female volunteers. *Kongressband Phytopharmaka Phytotherapie.* 2008; 26.
37. Rahimi R, Abdollahi M. An update on the ability of St. John's wort to affect the metabolism of other drugs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2012; 8; 691-708.
38. Wölfle U, Seelinger G, Schempp CM. Topical application of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Med.* 2014; 80; 109-120.
39. Mathijssen RH, Verweij J, de Bruijn P, Loos WJ, Sparreboom A. Effects of St. John's wort on irinotecan metabolism. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94; 1247–1249.
40. Sugimoto K, Ohmori M, Tsuruoka S, Nishiki K, Kawaguchi A, Harada K, et al. Different effects of St John's wort on the pharmacokinetics of simvastatin and pravastatin. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 70; 518–524.
41. Andrén L, Andreasson A, Eggertsen R. Interaction between a commercially available St. John's wort product (Movina) and atorvastatin in patients with hypercholesterolemia. *Eur J Clin Pharmacol.* 2007; 63; 913–916.
42. Greeson JM, Sanford B, Monti DA. St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology (Berl).* 2001; 153; 402-414.
43. Stokes PE, Holtz A Fluoxetine tenth anniversary update: the progress continues. *Clin Ther* 1997; 19:1135–1250.
44. SmPC Portal 20 mg trde kapsule, (datum zadnje revizije besedila 10. 10. 2008), <http://si.draagle.com/>, datum dostopa: 6.11.2014.
45. Onoue S, Seto Y, Ochi M, Inoue R, Ito H, Hatano T, Yamada S. In vitro photochemical and phototoxicological characterization of major constituents in St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) extracts. *Phytochemistry.* 2011;72; 1814-1820.



RAZVOJ GENSKEGA ZDRAVLJENJA PRI GLIOBLASTOMU

DEVELOPMENT OF GENE THERAPY FOR GLIOBLASTOMA

AVTOR / AUTHOR:

Peter Panjan, dipl. bioteh. (UN),
mag. inž. str. (UN)
Prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.

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

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: panjanpeter@gmail.com,
borut.strukelj@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Možgansko tkivo je sestavljeno iz dveh glavnih tipov celic: nevronov, ki opravljajo obdelavo in prenos informacij, ter celic glia, katerih naloga je vzdrževanje in preskrba nevronov. Celice glia delimo na oligodendrocite, ependimske celice, celice mikroglia ter astrocite (1). Astroцитom četrte stopnje – napredni tumor – je klasificiran kot multififormni glioblastom (GBM). Običajno se pojavlja v čelnem in sen-

čnem možganskem režnju in predstavlja najpogostejšo obliko malignega možganskega tumorja pri odraslih, njegova pojavnost znaša 3,2 novo diagnosticiranih primerov letno na 100 000 prebivalcev (2, 3, 4).

GBM nastane zaradi inaktivacije tumorskih supresorskih genov in aktivacije onkogeneze, kar povzroči spremenjeno

POVZETEK

Glioblastom je ena najsmrtonosnejših oblik raka s 3,2 novo diagnosticiranimi primeri na 100 000 prebivalcev letno. Uveljavljene oblike zdravljenja vključujejo operativni poseg, kemo- in radioterapijo ter dosega podaljšanje srednje dobe preživetja, ne omogočajo pa ozdravitve. Razvitih je več metod genskega zdravljenja. Kot vektorski sistem za gensko učinkovino se najpogosteje uporabljajo virusni vektorji, strategije pa vključujejo predvsem samomorilne gene, aktivacijo imunskega odziva ter izboljšave dovzetnosti za kemoterapijo. Gensko zdravljenje v teoriji ter predkliničnih testiranjih veliko obeta, v kliničnih študijah pa se praviloma pokažejo težave z difuzijo učinkovine, kar onemogoča učinkovito gensko zdravljenje glioblastoma.

KLJUČNE BESEDE:

gensko zdravljenje, glioblastom, onkologija, rak.

ABSTRACT

Glioblastoma is one of the deadliest types of cancer diagnosed in 3.2 out of 100,000 people annually. Standard of care includes surgical resection, chemo- and radiotherapy. Although it enables longer patients' mean survival, it is not considered a cure. Many diverse methods of gene therapy have been developed in a search for a cure, variants including different vector systems – virus vectors are being used most frequently – and different strategies like suicide genes, immune system activation and chemotherapy enhancements. Gene therapy should work in theory and it achieved promising results in preclinical studies. However, clinical trials brought doubt in its efficacy mostly due to active ingredients' lack of intratumoral diffusivity.

KEYWORDS:

gene therapy, glioblastoma, oncology, cancer

transkripcijo proteinov, vključenih v celično homeostazo, regulacijo celičnega cikla ter interakcije z ostalimi celicami centralnega živčnega sistema (5). Prevalenca je višja v starostni skupini nad 65 let in narašča (s 5,1 na 100 000 v sedemdesetih letih 20. stoletja na 10,6 na 100 000 v devetdesetih letih). Bolniki z diagnosticiranim glioblastomom se soočajo s slabo prognozo, saj kljub agresivnemu zdravljenju pričakovana življenjska doba znaša med 12 in 15 mesecev, za starejše od 65 let pa redko nad 5 mesecev (2). Več kot pet let po diagnozi glioblastoma preživi zgolj približno 3 % bolnikov (6).

2 UVELJAVLJENE OBLIKE ZDRAVLJENJA

Prva izbira klasičnega zdravljenja GBM je kirurški poseg, ki bi v idealnem primeru lahko bolezensko stanje ozdravil, vendar je le redko tako. Lokacija tumorja v občutljivem možganskem tkivu namreč onemogoča poseg brez poškodb zdravega tkiva, popolno odstranitev pa dodatno otežuje nejasna meja med zdravim in rakastim tkivom. Operaciji običajno sledi radioterapija, ki pa se lahko uporabi tudi kot samostojno zdravljenje v primeru prevelikih histopatoloških ovir za operacijo.

Na tržišču je na voljo kemoterapevtik temozolomid (TMZ), ki je indiciran za zdravljenje glioblastoma ter astrocitomov tretje stopnje (7), njegova učinkovitost pa je primerljiva z radioterapijo (2). TMZ deluje tako, da metilira DNA in s tem onemogoči normalno delovanje dednine (8). Gre za relativno majhno molekulo (194 Da), ki se zato absorbira v gastrointestinalnem traktu in brez večjih težav prehaja krvnomožgansko pregrado (7).

Zaradi omejene učinkovitosti ter težavnih neželenih učinkov (toksičnost lahko presega tretjo stopnjo od petih po splošnih kriterijih toksičnosti (CTC)) klasičnega zdravljenja za ta namen razvijajo inovativne imunološke in genske pristope – bodisi z namenom izboljšanja dovzetnosti za kemoterapijo bodisi kot samostojno zdravljenje. Za namen obravnave opredelimo kot imunološko zdravljenje postopke, ki vključujejo aktivacijo imunskega sistema brez poseganja v dednino, za gensko zdravljenje pa smatramo postopke z vnosom dednine v obolele celice, četudi je cilj imunološke narave. V okviru pričujočega prispevka se osredotočamo na slednjo skupino metod zdravljenja GBM.

3 PRISTOP H GENSKEMU ZDRAVLJENJU GBM

Pojav rakavega obolenja je povezan z različnimi genetskimi okvarami, zato poskusi zdravljenja z gensko terapijo predstavljajo logično izbiro zdravljenja. Za namen genskega zdravljenja so razvili številne strategije, ki vključujejo vnos t.i. samomorilnih genov, aktivacijo imunskega sistema ali onkolize ter popravilo dednine. Metode so različno učinkovite in raziskane, za transfekcijo pa uporabljajo predvsem virusne vektorje, redkeje liposome ali nanodelce, veliko pa obetajo še matične celice. Številne raziskovalne skupine po svetu preizkušajo različne strategije genskega zdravljenja in jih običajno kombinirajo s standardnim zdravljenjem za višjo učinkovitost (9).

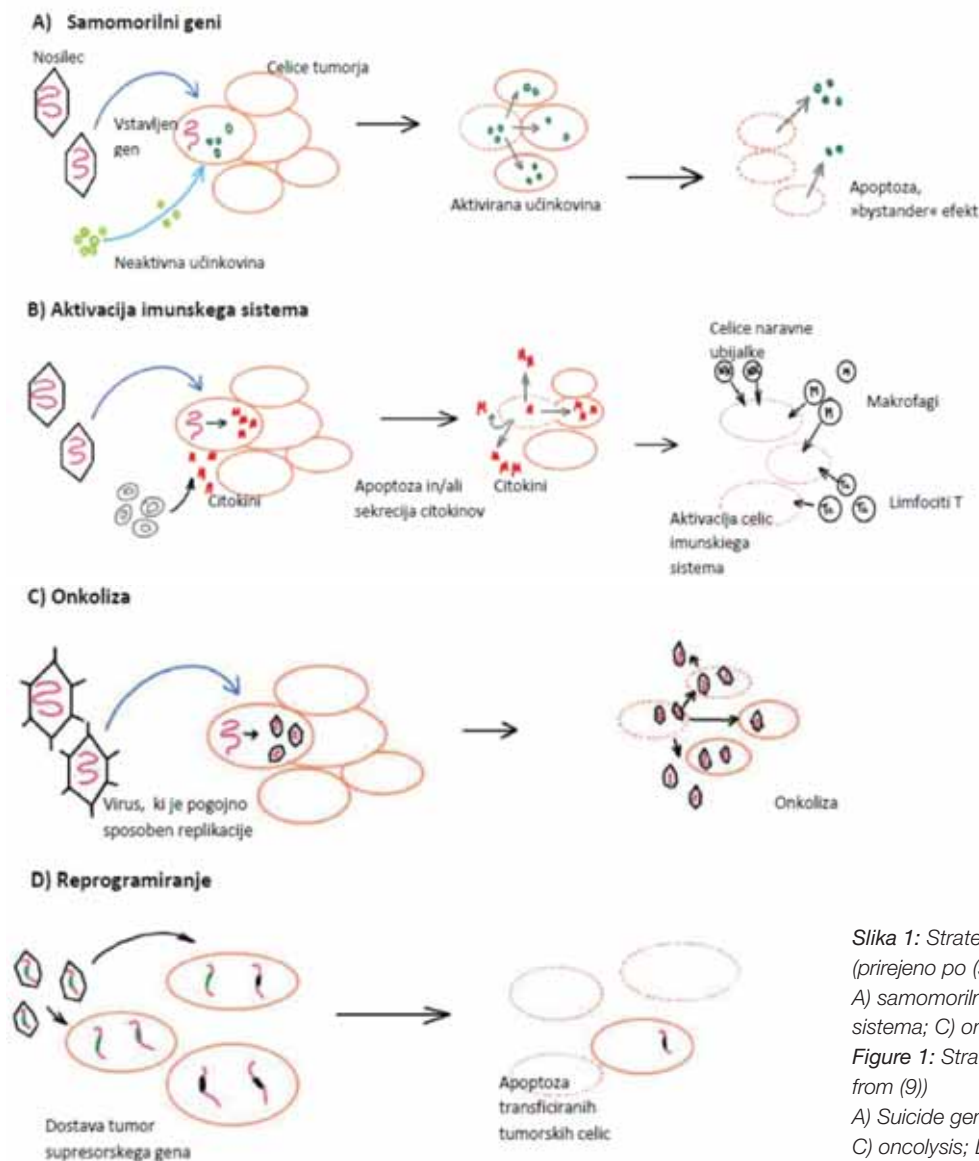
3.1 VEKTORSKI SISTEMI

Osnovni korak pri genskem zdravljenju je ciljan vnos genskega materiala (DNA) v tumorsko celico. Idealni vektorji za gensko zdravljenje naj bi bili visoko učinkoviti pri vnosu dednine v celice, so specifični, nepatogeni, replikacijsko onesposobljeni ter ne povzročajo takojšnjega imunskega odgovora (10).

Najpogosteje uporabljeni vektorski sistemi za gensko zdravljenje GBM so različni virusi. Divji tip virusa za vektorske namene replikacijsko onesposobimo in del dednine zamenjamo s terapevtskimi geni. Prva možnost je uporaba retrovirusnih vektorjev (RV), ki imajo ovojnico, enoverižno molekulo RNA in encim reverzno transkriptazo, ki gensko informacijo iz RNA pretvori v DNA in jo nespecifično vstavi v genom gostitelja. Adenovirusi (AV) so virusi brez ovojnice in vsebujejo dvoverižno DNA, transfekcija AV pa za razliko od RV ni stabilna – s celičnimi delitvami se dednina izgubi. Zanimivo možnost predstavljajo tudi adenoasociacijski virusi, ki so replikacijsko sposobni le ob koinfekciji s kompatibilnim AV, dednino pa vstavlja na stalno mesto v človeškemu genomu. Za zdravljenje GBM pogosto uporabljajo tudi viruse *Herpes simplex* (HSV), ki se obnašajo podobno kot adenovirusi (10).

Poleg virusnih poznamo še liposomske vektorske sisteme, ki so enostavnejši za izdelavo vendar manj učinkoviti za transfekcijo, v primeru genskega zdravljenja GBM pa je potrebno injiciranje v tumor. Veliko obetajo tudi matične celice, ki so sicer izjemno zahtevne za izdelavo, vendar so spos-





Slika 1: Strategije genskega zdravljenja (prirejeno po (9))
 A) samomorilni geni; B) aktivacija imunskega sistema; C) onkoliza; D) reprogramiranje.
 Figure 1: Strategies of gene therapy (adapted from (9))
 A) Suicide genes; B) immune activation; C) oncolysis; D) reprogramming.

obne specifično dostavljati dednino do rakavih celic preko krvnomožganske pregrade (9).

3.2 STRATEGIJE GENSKEGA ZDRAVLJENJA

Gensko zdravljenje lahko razdelimo po strategijah uničevanja tumorskih celic oziroma funkciji vstavljenega terapevtskega gena. Možnosti je veliko, idealna strategija pa naj bi bila visoko učinkovita in selektivna. Učinkovito naj bi odstranjevala tumorske celice, medtem ko na zdrave ne bi vplivala (9).

Prva in v primeru genskega zdravljenja GBM najpogosteje uporabljena strategija je uporaba t.i. samomorilnih genov. Glavno omejitev kemoterapije namreč predstavlja toksičnost, torej neželen vpliv na zdrave deleče se celice. Gensko zdravljenje s samomorilnimi geni potencialno rešuje to težavo. Temelji na sistemskem sprejemanju neaktivne učinkovine ter selektivni transfekciji tumorskih celic, ki tako začnejo izražati specifičen encim, ki aktivira prej neaktivno učinkovino. Ta inducira celično smrt transficirane ter okoliških celic (t.i. »bystander« efekt – učinek na okoliške celice, slika 1a) (9).

Strategija aktivacije imunskega sistema (slika 1b) zajema vstavev genov, ki kodirajo citokine, v tumorske celice. Tako transfecirane celice s citokini privabljajo celice imunskega sistema, ki odstranijo tumorske celice. Strategijo aktivacije imunskega sistema pogosto uporabljajo v raziskavah genskega zdravljenja GBM, onkolitične viruse pa redkeje. Gre za modificirane naravne viruse, ki preferenčno inficirajo tumorske celice, v katerih se razmnožujejo in povzročajo njihov razpad. Ob razpadu se sprosti veliko število novonastalih onkolitičnih virusov, kar omogoča nadaljnje odstranjevanje tumorskih celic (slika 1c) (9).

Zadnjo strategijo predstavlja reprogramiranje (slika 1d). Ključni element propagacije tumorja je utišanje tumor-supresorskega gena. Ideja strategije genskega zdravljenja temelji na vnosu aktivnega tumorskega supresorskega gena, ki povzroči apoptozo celice ali pa ustavi celičnega cikla (9).

4 PRIMERI RAZISKAV GENSKEGA ZDRAVLJENJA GLIOBLASTOMA

4.1 IZBOLJŠAVA DOVZETNOSTI ZA KEMOTERAPIJO

Učinkovitost kemoterapije s TMZ je tesno povezana z metilacijo promotornega O⁶-metilgvanin-DNA metiltransferaze (MGMT) bolnikovega genoma. MGMT odstranjuje metilne skupine z gvaninov na podlagi kovalentne vezave metilnih in alkilnih skupin na cistein na aktivnem mestu MGMT, zaradi česar ni mogoča regeneracija encima (11). Delovanje popravljalnega mehanizma je zato neposredno odvisno od sinteze *de novo* MGMT.

Delovanje MGMT nasprotuje funkciji TMZ, katerega učinek se zato izničuje. TMZ namreč DNA metilira, MGMT pa kot popravljalni mehanizem metilne skupine odstranjuje. Učinkovitost kemoterapije s TMZ je tako bistveno boljša pri bolnikih, ki imajo promotor gena MGMT metilirani in zato proteina popravljalnega mehanizma ni (2).

Če je mogoče, pri bolniku pred kemoterapijo preverimo stanje metilacije promotornega MGMT, saj TMZ pri bolnikih z nemetiliranim promotorjem MGMT povzroča zgolj neželene učinke in ga zato ne uporabljamo. Genska terapija ponuja možnost izboljšanja dovzetnosti za kemoterapijo s TMZ bolnikov z nemetiliranim promotorjem MGMT (12).

Vidnejša raziskava izboljšanja dovzetnosti za kemoterapijo je temeljila na tehnologiji interferenčne RNA (RNAi), ki inhibira ekspresijo tarčnega gena, na primer MGMT. Študija se je delila na preizkuse *in vitro* na človeškem GBM ter na modelu *in vivo* na laboratorijskih miškah, ki so subkutano nosile človeške GBM-tumorje. Za transfekcijo so uporabili reprodukcijsko onesposobljene lentiviruse – v njihovi plazmidni DNA so bili ohranjeni elementi za pakiranje, reverzno transkripcijo in integracijo, na mesto elementov za produkcijo kapside in proteinov ovojnice pa so bila vstavljena terapevtska zaporedja. Za intratumorsko aplikacijo so vstavili še gen za luciferazo z namenom enostavnejšega spremljanja pozicije tumorjev in transfekcij (12).

Celične linije, ki so izražale MGMT, so transfecirali s tremi različnimi plazmidi (kontrolni ter dva terapevtska, ki kodirata posebne RNAi – »small hairpin« RNA molekuli). Po transfekciji so spremljali njihovo občutljivost na TMZ in ugotovili, da je bilo tovrstno gensko posredovanje uspešno, saj so opazili znižanje izražanja MGMT (12).

Sledil je preizkus *in vivo*, kjer so spremljali vpliv genskega posredovanja na velikost GBM-tumorjev v ksenograftih. Opažene razlike med kontrolno in testno skupino so v primerjavi s testi *in vitro* bistveno manjše. Učinkovitost genskega posredovanja je tako omejena z zmožnostjo transfekcije tumorskih celic, ki pa je slabša zaradi težavne difuzivnosti učinkovine v realnem tumorju (12).

4.2 CILJANJE DEJAVNIKOV ANGIOGENEZE

Angiogeneza je proces razširjanja ožilja, vaskulogeneza pa pomeni nastajanje ožilja na novo (13). Proces sta ključnega pomena za rast in razvoj novega tkiva (14), saj so celice v človeškem telesu odvisne od krvožilnega sistema, ki jim dovaja vse za rast in razvoj potrebne snovi ter odvaja odpadne metabolite. V krvi transportirane snovi lahko v tkivu prosto difundirajo le na kratkih razdaljah, zato je razvejanje krvožilnega sistema ključnega pomena pri rasti tkiva, vključno z rakom. Angiogenezo pogojujejo dejavniki, ki se izražajo na celicah GBM, zato so primerna tarča za zdravljenje na primer s protitelesi (npr. bevacizumab (15)). Pomembnejši dejavniki angiogeneze so: vaskularni endoteljski rastni dejavnik (VEGF), ki deluje na dva receptorja (VEGFR1 preprečuje vključitev hemangioblasta in VEGFR2, ki omogoča diferenciacijo angioblasta), fibroblastni rastni dejavnik (FGF, receptor FGFR); velik pomen ima transkripcijski dejavnik STAT3, signalni prenosnik ter aktivator tran-



skripcije 3 (16). Z zaviranjem angiogeneze onemogočamo rast tumorja, dejavniki angiogeneze pa so tudi obetavne tarče različnih genskih učinkovin, saj omogočajo visoko specifično transfekcijo. Četudi zaviranje angiogeneze ni osnovni mehanizem delovanja genske učinkovine, je poznavanje visoko izraženih dejavnikov pomembno pri načrtovanju ciljanja transfekcije.

4.3 UTIŠANJE ONKOGENIH MIKRO RNA

Mikro RNA (miRNA) so kratke nekodirajoče molekule RNA, ki na podlagi interakcij s kodirajočimi RNA (mRNA) onemogočajo izražanje specifičnih tarčnih genov. Znotraj GBM-tumorskih celic so identificirali več povišano izraženih miRNA molekul, katerih tarča so tumor-supresorski geni. Takšne miRNA tako omogočajo nastajanje tumorjev, njihovo utišanje pa je eden od pristopov genskega zdravljenja. Najenostavnejši način onemogočanja delovanja miRNA je transfekcija z gensko učinkovino, ki kodira protismiselno zaporedje tarčne miRNA in jo onesposobi s kompetitivno vezavo (20).

Primer takšne molekule je miRNA-566, za katero so ugotovili, da aktivira signalno pot epidermalnega rastnega dejavnika (EGFR-signalna pot) pot in s tem pripomore k rasti GBM. Raziskavo možnosti inhibicije proliferacije GBM na podlagi utišanja miRNA-566 so izvedli *in vitro* s celičnimi linijama ter *in vivo* z intrakranialnim človeškim tumorjem GBM v živalskem modelu. Za transfekcijo so uporabili lenti-virus. Rezultati preizkusa *in vitro* so bili obetavni – zmožnost celic GBM za tvorbo kolonij se zniža po utišanju miRNA z Lenti-AS-566, pristop pa je nekoliko manj uspešen v *in vivo* modelu. Čeprav je opazen učinek posega, se doba preživetja testnih živali ne podaljša bistveno (20).

4.4 SAMOMORILNI GENI

Gensko zdravljenje s samomorilnimi geni je najpogosteje raziskovana strategija genskega zdravljenja (21). Raziskali so večje število parov učinkovin ter aktivirajočih encimov in le nekatere so se uveljavile v kliničnih kombinacijah, kot npr. citozinska deaminaza/5-fluorocitozin sistem (CD/5-FC) (22). Takšna kombinacija je zelo učinkovita že pri nizkih odstotkih transfeciranih celic (22). Najbolje raziskana je kombinacija virusa *Herpes simplex* in timidinske kinaze (HSV-TK) (21). HSV transfecira celice, ki nato pričnejo izražati timidinsko kinazo (TK), bolnikom pa sistemsko apliciramo ganciklovir (GCV), ki ga TK v tumorju pretvori v toksični metabolit GCV-trifosfat (22). Posledica toksičnega metabolita je celična smrt, metoda pa obeta učinkovito

možnost genskega zdravljenja GBM.

4.5 SITIMAGENE CERADENOVEC

Prevalenca GBM znaša približno 10 bolnikov na 100 000 (2), zato zdravljenja za zdravljenje GBM ustrezajo pogojem za prijavo zdravila sirote (do 5 primerov na 10 000) (23). Za namene zdravljenja GBM so opravili veliko študij, v okviru genskega zdravljenja pa tako po številu kot napredku izstopajo študije uporabe HSV-TK sistema. Učinkovina sitimagene ceradenovec (HSV-TK) je edina genska učinkovina indicirana za zdravljenje GBM, ki je uspešno prestala tretjo stopnjo kliničnih testiranj (21, 24).

Stopnjo naprednosti rakavega obolenja ocenimo po lestvici stanja zmogljivosti po Karnofskem (»Karnofsky performance status«, KPS). Ocena KPS 100 pomeni aktivnega bolnika brez znakov bolezni, s povišanjem izraznosti znakov bolezni se številčna ocena znižuje do 0, ko nastopi smrt (25). Za namen klinične študije učinkovine sitimagene ceradenovec četrte stopnje so 250 bolnikov z oceno KPS nad 70 iz celotne Evrope z GBM naključno razdelili v kontrolno in testno skupino. Prvo so zdravili z intratumoralno transfekcijo z učinkovino sitimagene ceradenovec (enkratna transfekcija s serijo 30 do 70 injekcij), druga pa s standardnimi postopki zdravljenja GBM (majhna odstopanja med vključenimi državami in klinikami). Bolniki obeh skupin so bili ob ugodni metilaciji MGMT tretirani tudi s kemoterapevtikom TMZ. V okviru študije so spremljali napredek bolezni pri bolnikih, neželene učinke, čas do smrti in tudi koncentracijo protiteles proti adenovirusu v serumu. Takšna nevtralizirajoča protitelesa namreč onemogočajo delovanje učinkovine in transfekcijo celic ter posledično kritično vplivajo na uspešnost postopka genskega zdravljenja (24).

Rezultati študije kažejo, da zdravljenje s sitimagene ceradenovec izboljša dobo preživetja do ponovnega posega ali smrti v primerjavi s kontrolno skupino – ne glede na uporabo TMZ. Testi titra nevtralizirajočih protiteles izkazujejo porast v eksperimentalni skupini, medtem ko so titri takšnih protiteles v serumih bolnikov kontrolne skupine bistveno manjši. Porast titra protiteles proti adenovirusom je posledica vnosa adenovirusnega vektorja – učinkovine sitimagene ceradenovec, saj se titer v roku enega leta po transfekciji v eksperimentalni skupini zmanjša, slednje pa ne velja za kontrolno skupino. Znotraj eksperimentalne skupine so opravili analizo bolnikov s povišanim titrom nevtralizirajočih protiteles in tistih brez povišanja. Izkazalo se

je, da je učinek sitimagene ceradenovec višji pri bolnikih s povišanim titrom protiteles (24).

Rezultati klinične študije ne kažejo bistvenega izboljšanja splošnega preživetja bolnikov, zdravljenih s sitimagene ceradenovec v primerjavi s klasičnimi pristopi zdravljenja, hkrati pa so zabeležili rahel porast neželenih učinkov. Vseeno so rezultati vsodbudni, saj proučevana učinkovina izboljša čas do ponovnega posega ali smrti (24).

Ob začetku raziskav v letu 2002 je Odbor za medicinske izdelke za človeško uporabo (CHMP) pri Evropski agenciji za zdravila (EMA) odredil postopek pridobitve dovoljenja za promet sitimagene ceradenovec kot zdravila sirote. Družba Ark Therapeutics je opravila vse potrebne študije in predstavila rezultate ter zaprosila za dovoljenje za promet. EMA je prošnjo zavrnila na podlagi zaključka, da sitimagene ceradenovec ne izkazuje učinkovitosti, vpliva pa na hude stranske učinke. Te ugotovitve so vodile do umika prošnje za dovoljenje za promet z zdravilom sitimagene ceradenovec (26).

5 KOMENTAR IN ZAKLJUČEK

GBM predstavlja eno najsmrtonosnejših oblik raka, saj se nahaja v zelo občutljivem možganskem tkivu, ki ni sposobno samostojnega obnavljanja (3). Prva možnost zdravljenja tumorja je kirurški poseg, ki pa se v primeru glioblastoma pogosto izkaže za težko izvedljiv korak. Razlog za to je omejena dostopnost – bodisi zaradi zaščite in predvsem zaradi občutljivosti možganskega tkiva. Manjša nepravilnost v kirurškem posegu lahko povzroči težke nevrološke zaplete, možganska kap v primeru poškodbe žile je le eden od možnih scenarijev. V primeru, da je operacija možna, ta v najboljšem primeru zgolj podaljša dobo preživetja bolnika in ne botruje ozdravitvi, za katero bi bila potrebna popolna odstranitev vseh rakavih celic. Histopatološke značilnosti GBM popolno odstranitev vseh rakavih celic onemogočajo, saj so meje tkiva glioblastoma težko razločljive in zahajajo globoko v zdravo tkivo.

Za zdravljenje GBM intenzivno raziskujejo najrazličnejše metode in učinkovine, velik del raziskav predstavlja gensko zdravljenje. Poznavanje genetskih sprememb, ki vodijo do nastanka GBM, značilnih metabolnih poti ter molekularnih

tarč GBM je pripeljalo do razvoja vektorjev, ki specifično transfecirajo tumorske celice. Uporabljajo najrazličnejše strategije zdravljenja, predvsem samomorilne gene ali pa aktivacijo imunskega odziva. Vse metode v teoriji delujejo brez večjih zadržkov in veliko obetajo, preizkusi *in vitro* pogosto dokazujejo njihovo verodostojnost, prve težave pa se ponekod pojavijo že v okviru predkliničnih testiranj na živalih. Kljub temu da rezultati na ksenograftih ne dokazujejo možnosti ozdravitve, pa nakazujejo na podaljšano dobo preživetja. Na podlagi teh dognanj so številne genske zdravilne učinkovine v postopkih kliničnih preizkusov.

Dokazi o učinkovitosti genskega zdravljenja so v okviru kliničnih preizkusov še bolj izmuzljivi kot v predhodnih fazah. Učinkovine, ki so prestale drugo fazo kliničnih testiranj, so redkost. Glavne težave predstavlja vprašljiva in neznačilna učinkovitost, ki ne odtehta občasnih hudih neželenih učinkov.

Razlogi za skromen uspeh genskega zdravljenja GBM so enaki kot pri kirurških posegih, kemo- in radioterapiji. Učinkovina namreč – običajno zaradi težav z difuzijo – ne omogoča popolne odstranitve vseh celic, zato se iz ostanka vedno znova razvije nov tumor (9).

Najperspektivnejša smer raziskav genskega zdravljenja GBM je uporaba matičnih celic kot prenosnih vektorjev, za vse ostale strategije pa obvelja pomislek o nepopolni odstranitvi tumorskih celic. GBM bo postal ozdravljiv z učinkovino, ki bo omogočala popolno in selektivno odstranitev vseh celic tumorja.

6 VIRI

1. Meschner LM. *Junqueira's Basic Histology*. McGraw Hill 2010.
2. Arvold ND, Reardon DA. *Treatment options and outcomes for glioblastoma in the elderly patient*. *Clin Interv Aging* 2014; 9: 357-367.
3. Neal AJ, Hoskin PJ. *Clinical Oncology, Basic Principles and Practice*. Arnold 2003.
4. Louis DN, Ohgaki H, Kleihues P. *The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system*. *Acta Neuropathol* 2007; 114 (2): 97-109.
5. Goldlust SA, Turner GM, Goren JF et al. *Glioblastoma multiforme: multidisciplinary care and advances in therapy*. *Hospital Physician* 2008; 6: 9-39.
6. Tobias A, Ahmed A, Moon KS et al. *The art of gene therapy for glioma: a review of the challenging road to the bedside*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012; 84 (2): 213-222.



7. *The Internet Drug Index. Temodar.*
<http://www.rxlist.com/temodar-drug/indications-dosage.htm>. Dostop: 11-4-2014.
8. Chu E, Sartorelli AC. *Cancer Chemotherapy. V: Basic & Clinical Pharmacology.* Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (ur.) 2012; 949-975.
9. Kwiatkowska A, Nadhu MS, Behera P et al. *Strategies in gene therapy for glioblastoma.* Cancers 2013; 5: 1271-1305.
10. Kreft S, Doljak B, Obermajer N. *Osnove genskega zdravljenja. V: Biološka zdravila: od gena do učinkovine.* Štrukelj B, Kos J (ur.) 2007; 592-625.
11. Silber JR, Bobola MS, Blank A et al. *O6-methylguanine-DNA methyltransferase in glioma therapy: Promise and problems.* Biochim Biophys Acta 2013; 1826 (1): 71-82.
12. Viel T, Monfared P, Schelhaas S et al. *Optimizing glioblastoma temozolomide chemotherapy employing lentiviral-based anti-MGMT shRNA technology.* Mol Ther 2013; 3: 570-579.
13. Risau W, Flamme I. *Vasculogenesis.* Annu Rev Cell Dev Biol 1995; 11: 73-91.
14. Sheppard D. *Endothelial integrins and angiogenesis: not so simple anymore.* J Clin Invest 2002; 110: 913-914.
15. Soffiotti R, Trevisan E, Bertero L et al. *Bevacizumab and fotemustine for recurrent glioblastoma: a phase II study of AINO.* J Neurooncol 2013; 116 (3): 533-554.
16. Carmeliet P. *Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis.* Nat Med 2000; 3: 389-395.
17. Kim JE, Lee Y, Cho HJ et al. *NTRK1 Fusion in Glioblastoma Multiforme.* PLoS One 2014; 9, 3: e91940, doi: 10.1371: 9 str.

18. Fuh B, Sobo M, Cen L et al. *LLL-3 inhibits STAT3 activity, suppresses glioblastoma cell growth and prolongs survival in a mouse glioblastoma model.* Br J Cancer 2009; 100 (1): 106-112.
19. Yan M, Parker BA, Schwab R et al. *HER2 aberrations in cancer: Implications for therapy.* Cancer Treat Rev 2014; 4: 43-47.
20. Zhang KL, Zhou X, Han L et al. *MicroRNA-566 activates EGFR signaling and its inhibition sensitizes glioblastoma cells to nimotuzumab.* Mol Cancer 2014; 13: 63-74.
21. lwami KI, Natsume A, Wakabayashi T. *Gene therapy for high-grade glioma.* Neurol Med Chir 2010; 50 (9): 727-736.
22. Tobias A, Ahmed A, Moon KS et al. *The art of gene therapy for glioma: a review of the challenging road to the bedside.* J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012; 84 (2): 213-222.
23. *European Commission. Orphan medical products.* http://ec.europa.eu/health/human-use/orphan-medicines/index_en.htm. Dostop: 1-5-2014.
24. Westphal M, Ylä-Herttävaka S, Martin J et al. *Adenovirus-mediated gene therapy with sitimagene ceradonovex followed by intravenous ganciclovir for patients with operable high-grade glioma (ASPECT): a randomised, open-label, phase 3 trial.* Lancet Oncol 2013; 14: 823-833.
25. Hotujec S, Urankar M, Zwitter M. *Lestvice ocenjevanja stanja zmogljivosti.* Onkologija 2007; 1: 55.
26. *European Medicines Agency. Cerepro.* http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicine/human/medicines/001103/wapp/Initial_authorisation/human_wapp_000083.jsp&mid=WC0b01ac058001d128. Dostop: 1-5-2014.

Kontracepcijske tabletko nisem vzela že 2 leti, 3 mesece in 4 dni in ves ta čas sem bila več kot 99% zaščitena

Skrajšan povzetek glavnih značilnosti zdravila



▼ Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitre na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevnem neželitem učinku zdravila.

Uporaba pri ženskah, ki še niso nikoli rodile • Zdravilo Jaydess ima kontracepcijski učinek od trenutka, ko se v maternico vstavi, saj so klinične izkušnje pri njih maloznamljive. Vplivi na vzorce menstrualne krvavitve • Vplivi na vzorce menstrualne krvavitve so pričakovani pri uporabi zdravila Jaydess. Da odloženostja so posledica nepretrganega delovanja levonorgestrela na endometrij in niso odvisna od delovanja jajčnikov. **Okužbe v mali medeni** • Čeprav v stiku zdravilo Jaydess in inserter sterilen lahko zaradi bakterijske kontaminacije med vstavitvijo postane sredstvo za prenos mikroorganizmov v zgornji rodila. O vseh mail medijah so poročali med uporabo katerikoli IUS ali materničnih vložkov (IUD - intrauterine device).

IME ZDRAVILA • IUS s hitro intravaginacijo dostavnim sistemom **KAKOVOSTNA IN KOLIČINSKA SESTAVA** (Intravaginacijo dostavnim sistemom s hitro inženjerskim IUS) je levonorgestrel. Pomembni sestavni deli: metilfenilololonni elastomeri, brezvodni koloidni silicijev dioksid, polietilen, barjarij sulfat (za težavne položaje), nitrocelulozni filter **FARMACEVTSKA OBLIKA** • Maternični vložek (IUS) • Velikost zdravila Jaydess: 25 mm x 30 mm x 1,55 mm **TERAPEVTSKE INDIKACIJE** • Kontracepcija • Zdravilo Jaydess se vstavi v maternično votlino in učinkuje do tri leta. **ODMEREVANJE IN NAČIN UPORABE** • Odmerjanje • Zdravilo Jaydess se vstavi v maternično votlino in učinkuje do tri leta. **Vstavitev in odstranitev/zamrzavanje** • Priporočljivo je, da zdravilo Jaydess vstavljajo le zdravniki (zdravnice). Zdravilo Jaydess se vstavi v maternično votlino v sedmih dneh po začetku menstruacije. Zdravilo Jaydess se lahko zamenja s novim sistemom kadar koli med ciklusom. Zdravilo Jaydess se lahko vstavi tudi takoj po sestavi v prvem trimesečju nosečnosti. Po porodu je treba vstavljati počakati, dokler se maternica ne zmehča na normalno velikost, vendar se zdravila ne sme vstaviti prej kot šest tednov po porodu. Če je zmanjšanje maternice zelo upočasnjeno, se lahko počaka do 12 tednov po porodu. Če pride med vstavitvijo do težav in/ali se med vstavitvijo ali po njej pojavijo hude bolečine ali krvavitve, je treba takoj opraviti klinični pregled ter pregled s ultrazvokom in na ta način ugotoviti poročila. Zdravilo Jaydess se od drugih IUS razlikuje po tem, da je na ultrazvokov vidni snežni obroček. Ker T-prostec zdravila Jaydess vsebuje barjarij sulfat, je viden na rentgenskih slikah. Sistem je treba odstraniti najpozneje do konca tretjega leta. Če želi ženska še naprej uporabljati isto metodo, se lahko takoj po odstranitvi prvega sistema vstavi nov sistem. **Sprejete bolečine** • Zdravilo Jaydess niso preučevali pri ženskah, starejših od 65 let. Uporaba zdravila Jaydess ni priporočena pri ženskah v obdobju po menopavzi. **Bolnice z jetrnim okvarom** • Zdravilo Jaydess niso preučevali pri ženskah z jetrnim okvarom. Zdravilo Jaydess je kontraindicirano pri ženskah z akutno jetrno boleznijo ali jetrnim tumorjem. **Bolnice z ledvičnim okvarom** • Zdravilo Jaydess niso preučevali pri ženskah z ledvično boleznijo. **Podatinski populacija** • Varnost in učinkovitost zdravila Jaydess pri ženskah, mlajših od 18 let, niso preučevali. Uporaba tega zdravila pred prvo mesečno krvavitvijo ni indicirana. **Način uporabe** • IUS pri zdravljenju z uporabo aseptične tehnike.

INTERAKCIJE • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol.

OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol.

OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol.

OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol.

OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol.



Nova možnost kontracepcije, ki omogoča do 3 leta brezkrvnosti.

- brez dnevne, tedenske ali mesečne rutine¹
- klinično preskušena pri ženskah, ki so ali še niso rodile^{1,2}
- visoka učinkovitost ob nizkem odmerku hormona^{1,2}
- preprosta vstavitev²
- hitra povrnitev plodnosti po odstranitvi¹



Literatura: Jaydess Povzetek glavnih značilnosti zdravila • Gemzell-Daniellson et al. Fertility and Sterility 2012, Vol 97 (3): 616-622

INTERAKCIJE • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol. **OPREDELJEVANJE INTERAKCIJE** • Zdravilo Jaydess lahko vpliva na učinkovitost drugih zdravil, vključno z zdravili, ki vsebujejo alkohol.

VLOGA PRENAŠALCA ABCB5 V INICIACIJI, INVAZIJI IN ZASEVANJU MALIGNEGA MELANOMA IN MOŽNOSTI RAZVOJA NOVIH TARČNIH UČINKOVIN

THE ROLE OF ABCB5 TRANSPORTER IN THE INITIATION, INVASION AND METASTATIC SPREAD OF MALIGNANT MELANOMA AND PROSPECTS FOR DEVELOPMENT OF NEW TARGET SUBSTANCES

AVTOR / AUTHOR:

asist. Tanja Prunk, dr. med.¹

doc. dr. Mojca Lunder, mag. farm.²

doc. dr. Polonca Ferik, mag. farm.³

¹ Zdravstveni dom dr. Adolfa Drolca Maribor,
Ulica talcev 9, 2000 Maribor

² Katedra za farmacevtsko biologijo, Fakulteta za
farmacijo Univerze v Ljubljani, Aškerčeva cesta 7,
1000 Ljubljana

³ Katedra za farmakologijo in eksperimentalno
toksikologijo, Medicinska fakulteta Univerze v
Mariboru, Taborska 8, 2000 Maribor.

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: tanja.prunk@gmail.com

POVZETEK

Incidenca malignega melanoma, ene izmed najagresivnejših oblik raka, strmo narašča. Žal pa trenutno še ne poznamo učinkovite terapije, ki bi lahko bistveno izboljšala potek zdravljenja bolnikov z malignim melanomom. Razlog za veliko odpornost na obstoječo terapijo in slabo prognozo bolnikov v veliki meri pripisujemo prenašalcu ABCB5, ki zaradi svoje večfunkcionalnosti igra pomembno vlogo pri iniciaciji, invaziji in zasevanju te vrste raka. Celice, ki izražajo ABCB5, imajo lastnosti matičnih celic ter številne prednosti pri preživetju v primerjavi z ostalimi celicami, ki tvorijo tumorsko maso. To vodi do kliničnega relapsa bolezni pri bolnikih z navidezno ozdravljenim malignim melanomom tudi nekaj let po prestali kemoterapiji, radioterapiji ali imunoterapiji. Da bi lahko dosegli željeno ozdravitev bolnikov, bo potrebno usmerjeno uničenje te agresivne subpopulacije celic. V članku opisujemo tudi nekaj obetavnih rezultatov predkliničnih študij, ki predstavljajo podlago za nadaljnje klinične raziskave in razvoj novih tarčnih zdravil.

KLJUČNE BESEDE:

maligni melanom, prenašalec ABCB5, rakaste matične celice, partenolid, IgG monoklonsko protitelo proti ABCB5

ABSTRACT

The incidence of malignant melanoma, one of the most aggressive cancers, is rising steeply. Unfortunately, we currently do not have an effective therapy which could significantly improve the medical treatment outcomes of patients with malignant melanoma. The reason for the current therapeutical resistance and poor prognosis is largely attributed to the ABCB5 transporter. ABCB5 with its multifunctionality plays an important role in the initiation, invasion and metastatic spread of cancer. Cells expressing ABCB5 have properties of stem cells as well as a number of advantages in survival compared with other cells that form the tumor mass. This leads to a clinical relapse in patients with supposedly cured malignant melanoma even some years after treatment with chemotherapy, radiotherapy or immunotherapy. In order to really cure these patients we would need a targeted destruction of this



aggressive subpopulation of cells. In this paper we also describe some promising results of preclinical studies, which form the basis for further clinical research and development of new targeted drugs.

KEYWORDS:

malignant melanoma, ABCB5 transporter, cancer stem cells, parthenolide, IgG anti-ABCB5 monoclonal antibody

1 MALIGNI MELANOM

1.1 OPREDELITEV MALIGNEGA MELANOMA

Maligni melanom (MM) je ena izmed najagresivnejših oblik raka z veliko zmožnostjo zasevanja [1]. Gre za hitro napredujočo bolezen z najhitreje rastočo incidenco med vsemi rakavimi obolenji. Incidenca MM se večja po vsem svetu, še posebej pri ljudeh s svetlim tipom kože, ki so bili prekomerno izpostavljeni sončnim žarkom [2]. Če se diagnozo postavi preden rak zaseva, ga lahko ozdravimo s kirurškim izrezom [3]. Stopnja 5-letnega preživetja pada z naraščanjem debeline melanoma in je manj kot 5 % pri bolnikih s sistemskim razsojem [4]–[6]. Metastatski MM ostaja bolezen z zelo slabo prognozo (mediana preživetja je 6-9 mesecev), zlasti zaradi njegove velike odpornosti na obstoječo radioterapijo in kemoterapijo [2], [6]. Z zdravljenjem MM po sodobnih smernicah se kljub navidezni ozdravitvi bolezen pogosto ponovi [1]. Eden od razlogov za to so verjetno rakaste matične celice (RMC).

1.2 RAKASTE MATIČNE CELICE PRI MALIGNEM MELANOMU

Teorija RMC pravi, da so RMC izvor malignosti in edine celice v rakavem tkivu, ki so sposobne obsežne proliferacije in tvorbe novega rakavega tkiva [7]. Razvile naj bi se iz normalnih matičnih celic (MC) ali njihovih nezrelih potomcev z maligno preobrazbo [8]. RMC so našli v številnih tumorjih, vključno z MM [3]. Melanomske RMC (MRMC) imenujemo tudi melanosfere, in sicer zaradi lastnosti teh celic, da v kulturi tvorijo kroglice, ki med seboj niso zraščene; MRMC je zato enostavno ločiti od ostalih celic v kulturi [9]. MRMC so sprožilke invazije in zasevanja MM [1].

Pomembna lastnost MC je njihova plastičnost, tj. sposobnost prilagoditve na novo okolje s pridobitvijo novih lastnosti, ustreznih temu okolju. Plastičnost predstavljajo sposobnosti za dediferenciacijo (tj. razvoja odrasle ali linijske usmerjene celice prednice v bolj primitivne oblike), transdeterminacijo (tj. spremembo iz ene v drugo predniško celično linijo), transdiferenciacijo (tj. sposobnost, ki omogoči diferencirani celici, da pridobi fenotipske značilnosti druge diferencirane celice) ter sposobnosti za celično fuzijo [10]. Pri slednji gre za združitev MC z že diferencirano celico v nekem tkivu, iz česar nastane večjedrni celični hibrid, iz katerega lahko med drugimi nastanejo tudi enojedrne diferencirane celice potomke z novimi lastnostmi [11].

Kot vse MC so tudi MRMC slabo diferencirane, zato je prepoznavanje njihovih specifičnih bioloških označevalcev težavno [1]. Do sedaj poznani možni označevalci za MRMC so ALDH1A (angl. *aldehyde dehydrogenase 1A*), CXCR6 (angl. *C-X-C chemokine receptor type 6*), Oct4 (angl. *octamer-binding transcription factor 4*), LNGFR (angl. *low-affinity nerve growth factor receptor*), CD133 (prominin-1), ABCG2 (angl. *ATP-binding cassette sub-family G member 2*), CD20 (angl. *B-lymphocyte antigen*), ABCB5 (angl. *ATP-binding cassette sub-family B member 5*) ter nekateri drugi [9], [12]–[17]. Zaradi izražanja transmembranskega proteina ABCB5 in svojih lastnosti plastičnosti, samoobnove ter hkratne odpornosti na obstoječo terapijo, MRMC preprečujejo ozdravitev bolnikov z MM.

1.2 ZDRAVLJENJE MALIGNEGA MELANOMA

Zdravljenje primarnega melanoma je kirurško - ekscizija celotne lezije z varnostnim robom, ki je odvisen od debeline primarnega melanoma, ter v primeru metastatskih bezgavk radikalna odstranitev le-teh v posameznih področnih bezgavčnih ložah. Tako pri primarni, regionalno razširjeni ali sistemsko razširjeni bolezni se lahko poslužujemo tudi radioterapije. Pri razširjeni bolezni se dodatno priporoča tudi imunoterapija z velikimi odmerki interferona alfa[5].

Bolnike s sistemsko razširjeno boleznijo zdravimo s kemoterapijo. Kemoterapija je polno učinkovita pri manj kot 5% bolnikov in delno učinkovita pri 25% bolnikov [5]. Kot edina priporočena farmakoterapija se v Sloveniji v monoterapiji uporablja alkilirajoči citostatik dakarbazin (dimetil-triazenoimidazol-karboksamid - DTIC), s katerim dosežemo odgore pri 5%-20% bolnikov [5]. Dakarbazin velja za referenčno zdravilo pri zdravljenju metastatskega MM. Ob

odpornosti na dakarbazin se poslužujemo terapije z drugim alkilirajočim citostatikom, tj. s cisplatinom oz. z njegovimi analogi v kombinaciji z drugimi citostatiki [5]. Uporablja se tudi temozolamid, alkilirajoči citostatik, ki deluje citostatično še na metastaze v osrednjem živčnem sistemu [5], [6]. Mnogokrat se pri razširjeni bolezni kemoterapija kombinira z imunoterapijo, s čimer dosegajo sicer več polnih odgovorov, vendar prognoza bolezni ostaja enaka [5]. Obetajoči so rezultati manjših kliničnih raziskav s tarčnimi zdravili, kot so monoklonska protitelesa (mAb) proti integrinom (npr. proti CD137 in proti CTLA-4 (angl. *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*), antigeni, ki jih kodirajo geni družine *MAGE* (angl. *melanoma-associated antigen*), peptidne vaccine ter vaccine iz dendritičnih celic [5], vendar nobeno izmed naštetih zdravil še ni v redni klinični uporabi.

Pri veliki odpornosti na obstoječo terapijo MM in izjemno slabi prognozi bolezni naj bi imel pomembno vlogo prenašalec ABCB5, ki je označevalec MRMC in zaradi svoje večfunkcionalnosti verjetno pomembno vpliva na iniciacijo, invazijo in zasevanje MM [18].

2 TRANSMEMBRANSKI PROTEIN ABCB5

2.1 OPREDELITEV PROTEINA ABCB5

Protein ABCB5 je ATP vezavni transmembranski protein iz družine P-glikoproteinov, z molekularno maso 89,7 kDa. Izraža se predvsem v koži, torej tkivu, kjer se nahaja obilo multipotentnih MC [11], [19]. Izražanje ABCB5 so ugotovili tudi pri jetrnem in kolorektalnem raku, raku dojke, ploščatoceličnem karcinomu ustne votline, horiokarcinomu ter trofoblastnem tumorju placentalnega ležišča [2], [19]–[21]. Gen za protein ABCB5, ki leži na kromosomski lokaciji 7p21-15.3, je prvič kloniral Frank s sodelavci leta 2003 [20].

2.2 PROTEIN ABCB5 KOT BIOLOŠKI OZNAČEVALEC MALIGNEGA MELANOMA

Melanomske celice, ki so ABCB5-pozitivne (ABCB5+), imajo večjo sposobnost tvorjenja tumorjev ter večjo sposobnost samoobnove, diferenciacije in metastaziranja, kot celice, ki so za ta označevalec negativne (ABCB5-) [1]. RMC so z izražanjem proteina ABCB5, ki med drugim pre-

naša tudi zdravila iz celice, zavarovane pred vplivom ksenobiotikov [19] ter tako odporne na obstoječo kemoterapijo [20]. Medtem ko po kemoterapiji ostale melanomske celice odmrejo in pride do navidezne ozdravitve bolezni, se čez čas le-ta mnogokrat ponovi, saj preživele celice ABCB5+ zaradi vseh lastnosti MC ponovno rekonstruirajo tumorsko maso [2]. Tudi zato ostaja MM, v kolikor predre bazalno membrano povrhnjice, bolezen z zelo slabo prognozo. Natančnejše razumevanje molekularnih mehanizmov delovanja proteina ABCB5 bi lahko predstavljalo osnovo za razvoj učinkovitejše diagnostike in terapije MM.

Protein ABCB5 predstavlja biološki označevalec tumorskega napredovanja, saj se izraža v večji meri pri primarnih in metastatskih MM kot pri benignih nevusih, pri debelejših primarnih MM bolj kot pri tanjših ter pri zasevkih v bezgavke bolj kot pri primarnih MM [17]. Možno je, da z maligno transformacijo pride do obsežnejšega izražanja proteina ABCB5 [20]. Obsežnejša ekspresija proteina ABCB5 pri MM je verjetno povezana tudi s hitrejšim metastaziranjem tega raka oz. z agresivnostjo tumorja [2]. S poskusi na miših so ugotovili, da celice ABCB5+ tvorijo potomce ABCB5+ in ABCB5-, medtem ko celice ABCB5- tvorijo le potomce ABCB5- [17]. Značilnost MC je, da lahko tvorijo sebi enake ali pa bolj diferencirane potomce, torej je potemtakem ABCB5 tudi biološki označevalec za MC, tako fiziološke kot patološke [11].

2.3 VLOGA PROTEINA ABCB5 V NADZORU CELIČNE FUZIJE

Celična fuzija je fiziološki mehanizem, ki prispeva k tkivni diferenciaciji ter tudi obnovi bolnega tkiva z zdravimi celicami [11]. Nadzoruje jo med drugim tudi protein ABCB5, in sicer z ohranjanjem transmembranskega potenciala MC [11].

Frank s sodelavci je s svojo raziskavo dokazal, da približno 13% melanocitov v človeški povrhnjici izraža protein ABCB5 in da več kot polovico od teh izraža tudi označevalec prednjic melanocitov, tj. protein CD133, ki je običajno prisoten v manj kot enem odstotku melanocitov povrhnjice [11]. Transmembranski glikoprotein CD133 se heterogeno izraža v melanocitnih tumorjih, v 17% benignih nevusov, v 39% primarnih melanomov in v 46% metastatskih melanomov ter nima znane fiziološke vloge [3]. Zaradi nasprotujočih si rezultatov različnih študij, protein CD133 ni potrjen kot univerzalni označevalec za povečan tumorogeni potencial pri MM človeka [3]. Študije na mišjih modelih so



pokazale, da CD133-pozitivne RMC pri gliomu izražajo več molekul žilnega endotelijskega rastnega dejavnika VEGF (angl. *Vascular Endothelial Growth Factor*) [3]. VEGF aktivira endotelne celice, kar vodi do oblikovanja novih žilnih struktur, ki se pričnejo razraščati v smeri rakaste novotvorbe [3].

Tiste celice, ki so izražale tako protein ABCB5 kot protein CD133, so imele več kot eno jedro, torej so bile hibridi, nastali s celično fuzijo. Po blokadi proteina ABCB5 z mAb so opazili, da so MC izrazito depolarizirane, kar je predpogoja za celično fuzijo [11]. Protein ABCB5 torej lahko preprečuje celično fuzijo MC z zdravimi diferenciranimi celicami in s tem obnovo rakastega tkiva z zdravimi celicami. Lahko pa dopusti fuzijo celic, ki imajo lastnosti MC, z diferenciranimi rakastimi celicami ter tako vodi do nastanka celičnih hibridov s specifično gensko ekspresijo ter zmožnostjo proliferacije, kar so dokazali na celični liniji raka dojke ter celični liniji epiteljskega tkiva dojke z lastnostmi MC [22].

Celična fuzija, ki lahko prispeva k obnovi tkiva, ima lahko torej tudi pomembno vlogo pri iniciaciji in napredovanju tumorjev. Fuzija med somatsko celico, ki je bila podvržena specifičnim mutacijam, in normalno MC lahko pojasni obsežne kromosomske nepravilnosti, opažene v začetnih fazah tumorjev [23].

2.4 VLOGA PROTEINA ABCB5 V ZAŠČITI PRED IMUNSKO ZAVRNITVIJO

Poleg tega, da protein ABCB5 uravnava celično fuzijo, prispeva tudi k zaščiti celic pred imunskim sistemom in pred apoptozo [20]. Celice ABCB5+ RMC imajo fenotipske in funkcionalne lastnosti, s katerimi se lahko izognejo delovanju imunskega sistema in posledični imunski zavrnitvi; uravnavajo lahko namreč delovanje T-limfocitov. Frank je s sodelavci dokazal, da te celice zavirajo od IL-2 odvisno aktivacijo T-limfocitov ter spodbudijo izločanje IL-10, ki zavira nastajanje citokinov v T-limfocitih CD4 [3].

2.5 VLOGA PROTEINA ABCB5 PRI ODPORNOSTI NA ZDRAVILA

Protein ABCB5 omogoča odpornost celic na zdravila s transportom le-teh iz znotrajceličnega v zunajcelični prostor [20]. Kemorezistenca subpopulacije celic ABCB5+ je resen problem pri bolnikih z MM, saj vodi do kliničnega relapsa bolezni [2]. Pri melanomskih celicah so poleg proteina ABCB5 v mehanizmu odpornosti vključeni tudi melano-

somi, ki lovijo molekule učinkovine v celici in jih izvažajo iz celice [2]. Chartrain s sodelavci je v svoji študiji dokazal, da imajo celice ABCB5+ prednost pri preživetju v primerjavi s celicami ABCB5- pri zdravljenju MM s kemoterapijo ter da se po takšni terapiji število celic ABCB5+ celo poveča [2]. V poskusih *in vivo* na miših, ki so bile zdravljene s temozolomidom (alkilirajočim citostatikom, ki je predzdravilo in po presnovi deluje s podobnim molekularnim mehanizmom in učinkovitostjo kot dakarbazin), so ugotovili povečan delež ABCB5+, sočasno z učinkovitim zaviranjem tumorske rasti in zmanjšanjem mase tumorja [2]. V poskusu *in vitro* na WM-266-4, G-361 in SK-MEL-28 celičnih linijah so bile celice izpostavljene dakarbazinu v toksičnih odmerkih. Z večanjem odmerka dakarbazina se je skupno število vseh tumorskih celic zmanjševalo, število celic ABCB5+ (ki so na začetku poskusa predstavljale 3-5% vseh tumorskih celic) pa se je povečalo nad izhodiščno število, najbolj v primerih 50-75% citotoksičnosti za skupno število vseh tumorskih celic. Težava tega pojava je, da lahko preživele celice ABCB5+ zaradi svojih lastnosti MC ponovno rekonstruirajo tumorsko maso [2]. Pri koncentracijah dakarbazina, ki so povzročile citotoksičnost pri > 75% vseh tumorskih celic, pa se je število celic ABCB5+ zmanjšalo na izhodiščno število. Izguba sposobnosti za preživetje, katero so dokazali pri večjih odmerkih dakarbazina, nakazuje, da postanejo mehanizmi, ki sprožijo zaščito celic ABCB5+ pred citotoksičnim stresom, preobremenjeni ter zato neučinkoviti [2]. Podobne rezultate so dobili tudi v poskusu *in vitro* z vemurafenibom (zaviralcem proteinskih kinaz), le da je maksimalni porast celic ABCB5+ pri slednjem večji. Vemurafenib je inhibitor kinaze Braf in se je izkazal za učinkovitega pri MM z mutacijo BRAF V600E (gre za substitucijo glutaminske kisline z valinom na poziciji 600) [24]. Mutacije BRAF so odkrili pri 41% kožnih MM in so pogosto povezane z akutno prekomerno izpostavljenostjo soncu in površinsko rastočim MM [24]. Vemurafenib sicer poveča preživetje bolnikov, žal pa zaradi razvoja rezistence ne vodi do daljšega kliničnega odziva ali ozdravitve [24].

V nasprotju s predhodnimi študijami pa se je v *in vitro* poskusu z antraciklinskim antibiotikom doksorubicinom pokazalo, da tudi število celic ABCB5+ pada z naraščajočim odmerkom zdravila. Četudi so imele celice ABCB5+ majhno prednost glede preživetja v primerjavi s skupnim številom tumorskih celic, ti rezultati nakazujejo, da so lahko tudi celice ABCB5+ občutljive na zdravljenje s citostatiki [2]. Po dveh tednih zdravljenja z doksorubicinom je število celic ABCB5+ ponovno naraslo na izhodiščno število, kar vendarle dokazuje dolgoročno preživetje teh celic tudi v tej

študiji. Že leta 2005 je Frank s sodelavci nakazal vlogo ABCB5 pri rezistenci na doksorubicin. Z blokado ABCB5 so namreč onemogočili transport zdravila iz melanomskih celic v zunajcelični prostor in povečali znotrajcelično kopičenje doksorubicina, zaradi česar se rezistenca nanj ni razvila. S tem so dokazali, da je transport molekul doksorubicina iz celice podlaga za razvoj rezistence na to zdravilo [25].

2.6 VLOGA PROTEINA ABCB5 PRI ZAVIRANJU DIFERENCIACIJE MATIČNIH CELIC

Pri MRMC, ABCB5 nadzoruje tudi sekrecijo signalne molekule IL1 β , ki služi za vzdrževanje počasnega celičnega cikla, značilnega za MC. To opravlja preko citokinske signalne poti IL1 β / IL8 / CXCR1. Interlevkin 8 (IL8) je posrednik klinične agresivnosti pri MM in pospešuje karcinogenezo. CXCR1 je receptor za IL8 in zelo pomemben za progresijo MM. Tako ABCB5 tudi neodvisno od funkcije prenašalca zdravil iz celice prispeva k rezistenci na protirakava zdravljenja, ki ciljajo hitrodeleče se celice, in sicer zaradi zaviranja diferenciacije celic v bolj zrele potomke s hitrejšim celičnim ciklom od MC [21]. Dokazano je, da so RMC odporne na kemoterapijo in radioterapijo [26]. Wilson s sodelavci je dokazal, da ABCB5 označuje počasi deleče se celice, ki izražajo CXCR1 in da blokada ABCB5 povzroča celično diferenciacijo in oslabi rast tumorja *in vivo* [21]. Malignost tumorjev se povečuje s stopnjo dediferenciacije in zmanjšuje s stopnjo diferenciacije, torej ABCB5 kot regulator diferenciacije močno pogojuje biologijo RMC ter tumorjev [27].

3 IMUNOGENOST MALIGNEGA MELANOMA

Nekateri rezultati raziskav nakazujejo nasprotno možnost, in sicer, da MM ni hierarhično organiziran v fenotipsko različne subpopulacije celic, med katerimi bi bile samo maloštevilne MRMC, ki izražajo ABCB5, tumorogene [28]. Quintana s sodelavci je dokazal, da je približno 25% oz. 28% vseh celic MM sposobnih tvoriti tumorje v imunsko oslABLjenih miših NOD/SCID IL2R [29], [30]. Rezultati verjetno niso neposredno prenosljivi na ljudi, še posebej zato, ker MM sodi med bolj imunogene vrste tumorjev, v miših pa so mnogi za človeka normalni imunski mehanizmi od-

sotni [1]. Protitumorskim imunskim mehanizmom so se sicer sposobne izogniti le redke celice, to so celice, ki imajo lastnosti RMC, kar potrjujejo poskusi na miših, ki so manj izrazito imunsko oslABLjene [1].

4 MOŽNOSTI RAZVOJA NOVIH SPECIFIČNIH UČINKOVIN ZA TARČNO ZDRAVLJENJE MALIGNEGA MELANOMA

4.1 SPLOŠNI PRISTOPI K RAZVOJU NOVIH SPECIFIČNIH UČINKOVIN ZA TARČNO ZDRAVLJENJE MALIGNEGA MELANOMA

Obstoječa terapija, s katero zdravimo bolnike z napredovalo obliko MM, lahko uniči samo že diferencirane melanomske celice, MRMC pa ne. Tako žal trenutno še ni učinkovite terapije, ki bi lahko bistveno izboljšala potek zdravljenja bolnikov z MM in zato ostaja potreba po razvoju novih terapij [3].

Zaradi pomembne vloge RMC (celice ABCB5+) kot izvora malignosti in zaradi njihovih sposobnosti, s katerimi prispevajo k obsežni rasti rakastega tkiva in k sproženju ponovnega pojava bolezni po navidezni ozdravitvi, bo potrebno usmerjeno uničenje te agresivne subpopulacije celic, da bi lahko dosegli želeno ozdravitev bolnikov z MM [8]. To bi bilo možno s ciljanjem molekularnih označevalcev teh celic, z inhibicijo samoobnove, ki jim omogoča nesmrtnost, ali pa s stimulacijo njihove diferenciacije [31]. Toda ugotovili so, da lahko zaradi sposobnosti prilagoditve na novo mikrookolje bolj diferencirane celice v procesu dediferenciacije pridobijo lastnosti matičnih celic [10], [31], zaradi česar bi bilo potrebno sočasno ciljanje tako matičnih kot bolj diferenciranih rakastih celic.

4.2 MONOKLONSKO PROTITELO PROTI PROTEINU ABCB5

Sistemske vnose mAb, usmerjenega proti ABCB5 (IgG protitelesu ABCB5 mAb), je pri poskusih na miših sprožil od protitelesa odvisno celično posredovano citotoksičnost proti MRMC ABCB5+ ter s tem znatno zavrl nadaljnjo tumorsko rast [17]. V tkivu tako zdravljenih miših so na mestu celic ABCB5+ opazili predele, infiltrirane z makrofagi, ki so pogosto mejili na področja celične degeneracije in nekroze [3]. Ti obetavni rezultati predstavljajo podlago za klinične



raziskave in razvoj novih tarčnih zdravil. Npr. z uporabo mAb ali s tehnologijo siRNA (angl. *small interfering RNA*), s katero utišajo translacijo s komplementarno vezavo siRNA na mRNA, bi sprožena inhibicija mRNA za protein ABCB5 lahko v človeku senzibilizirala melanomske celice za uničenje z doksorubicinom, 5-fluorouracilom (citostatik-anti-metabolit, analog pirimidina) ali za uničenje s kamptotekini (inhibitorji topoizomerase I) [3]. 5-fluorouracil in kamptotekini niso navedeni v Slovenskih smernicah za obravnavo bolnikov z MM [5].

4.3 PARTENOLID V CILJANEM ZDRAVLJENJU MALIGNEGA MELANOMA

V številnih predkliničnih študijah *in vitro* ter *in vivo* se je partenolid (PN), seskviterpenski lakton, pridobljen iz listov belega vratiča (*Tanacetum parthenium*), izkazal za učinkovitega zaviralca tumorske aktivnosti pri levkemijah ter solidnih tumorjih [31]. Njegova specifična značilnost je, da izzove celično smrt pri tumorskih celicah, pri zdravih pa ne, ter da zmanjša sposobnost preživetja RMC, kar so dokazali pri RMC osteosarkoma, akutne mieloične levkemije, multiplega mieloma, raka dojke, tumorja prostate ter MM [31].

Sztiller-Sikorska s sodelavci je s svojo študijo *in vitro* na melanomskih celičnih kulturah, pridobljenih iz vzorcev tkiva pacientov z nodularnim MM stadija III in IV po klasifikaciji TNM, odobreni s strani AJCC (angl. *American Joint Committee on Cancer*), dokazala, da PN zmanjša preživetje vseh melanomskih celic ter MRMC [31]. Celice ABCB5+ so bile celo bolj občutljive na zdravljenje s PN v primerjavi z ostalimi melanomskimi celicami. Pri 20% MRMC, ki so zdravljenje preživele, pa je PN zmanjšal proliferacijski potencial ter omejil njihovo zmožnost samoobnove. V primerjavi iz postavljenosti melanomskih celic dakarbazinu so ugotovili, da je bilo preživetje v obeh skupinah celic po dveh dneh izpostavljenosti PN ter dakarbazinu podobno, vendar se je po treh tednih v skupini, ki je bila izpostavljena dakarbazinu, število melanomskih celic ponovno zvečalo, v skupini, izpostavljeni PN, pa ne. Ta rezultat nakazuje, da lahko zdravljenje s 6 μ M PN v treh tednih povzroči izumrtje melanomskih celic [31].

Ugotovili pa so tudi, da ima PN slabo penetracijsko sposobnost, zaradi česar ima omejeno delovanje na lahko dostopne melanomske celice, bodisi v krvnem obtoku ali tiste v bližini krvnih žil tumorja [31]. PN deluje samo na površju

melanosfer ter zaradi tega najbrž ne bi bil uspešen kot samostojno zdravilo [31]. Njegovo penetracijsko sposobnost bi morda lahko izboljšali s drugimi kemikalijami, nanodelci ali polimeri. PN bi lahko tudi inkapsulirali v modificirane liposome, ki bi prešli celično membrano in dostavili zdravilo v celico. Lahko bi tudi modificirali samo strukturo zdravila, z namenom pridobiti derivate z izboljšanimi farmakokinetičnimi lastnostmi in posledično z izboljšano farmakološko učinkovitostjo za klinično aplikacijo [31].

5 SKLEP

Transmembranski protein ABCB5 je biološki označevalec za fiziološke in patološke MC ter za napredovanje MM, saj se njegovo izražanje povečuje z razsojem bolezni. Njegova pomembna vloga pri agresivnosti ter neozdravljivosti MM se kaže v njegovi večfunkcionalnosti. Protein ABCB5 lahko z nadzorom celične fuzije preprečuje obnovo rakavega tkiva z zdravimi celicami ter lahko omogoča proliferacijo rakastih celic. Z vlogo pri zaviranju od IL-2 odvisne aktivacije T-limfocitov ter spodbujanju izločanja IL-10 omogoča celicam ABCB5+, da se lahko izognejo delovanju imunskega sistema gostitelja in posledični imunski zavrnitvi. Z vlogo v odpornosti na zdravila daje celicam ABCB5+ prednost pri preživetju po kemoterapiji, radioterapiji in imunoterapiji v primerjavi s celicami ABCB5-. To vodi do kliničnega relapsa bolezni zaradi preživelih celic ABCB5+ pri bolnikih z navidezno ozdravljenim MM tudi nekaj let po prestali kemoterapiji, radioterapiji ali imunoterapiji [31]. Protein ABCB5 torej predstavlja povezavo med RMC, neoplastičnim napredovanjem pri MM ter rezistenco za obstoječo terapijo [3].

V prihodnosti bodo potrebne tudi klinične raziskave. Inhibicija ABCB5 z mAb bi npr. lahko v človeku senzibilizirala MRMC za uničenje s citostatiki, ki jih uporabljamo pri kemoterapevtskem zdravljenju. To bi za MM lahko predstavljalo usodni dvojni udarec, ki bi lahko prispeval k dokončni ozdravitvi tudi pri bolnikih z razsejano boleznijo. Drugo obetavno rešitev predstavlja PN, ki bi lahko zmanjšal preživetje vseh melanomskih celic v telesu, še posebej celic ABCB5+, in torej uničil tumor ter hkrati preprečil možnost ponovitve bolezni, v kolikor bi uspeli izboljšati njegove farmakokinetične lastnosti, zlasti njegovo penetracijsko sposobnost v notranjost melanomskih celic.

6 LITERATURA

- [1] Prunk T, Šalamon Š. Rakaste matične celice: ključ do uspešnejšega zdravljenja malignega melanoma? *Med. Razgl.*, vol. 53, no. 2, pp. 75–86, 2014.
- [2] Chartrain M, Riond J, Stenvein A, et al. Melanoma chemotherapy leads to the selection of ABCB5-expressing cells. *PLoS One*, vol. 7, no. 5, p. e36762, Jan. 2012.
- [3] Ma J, Frank MH. Tumor initiation in human malignant melanoma and potential cancer therapies. *Anticancer. Agents Med. Chem.*, vol. 10, no. 2, pp. 131–6, Feb. 2010.
- [4] Herman C. Emerging technologies for the detection of melanoma: achieving better outcomes. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, vol. 5, pp. 195–212, Jan. 2012.
- [5] Hočevar M, Strojani P, Ocvirk J, et al. Smernice in klinična pot za obravnavo bolnikov z melanomom. http://www.onko-i.si/uploads/media/Melanom_smernice_in_klinicna_pot_2010.p df. Dostop: 26-03-2014.
- [6] Zorka I. Melanom kože - dijagnostika i terapija. http://www.sanamed.rs/sanamed_pdf/sanamed_5/Zorka_inic.p df Dostop: 11-06-2014.
- [7] Keber R. Vloga matičnih celic pri nastanku raka mlečne žleze. *Acta Agric. Slov.*, vol. 96, no. 1, pp. 43–51, 2010.
- [8] Clarke MF, Becker MW. Stem cells: the real culprits in cancer? *Sci. Am.*, vol. 295, no. 1, pp. 52–9, Jul. 2006.
- [9] Fang D, Nguyen TK, Leishner K, et al. A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res.*, vol. 65, no. 20, pp. 9328–37, Oct. 2005.
- [10] Rožman P, Strbad M, Knežević M. Uporaba matičnih celic v medicini. <http://www.zrss.si/bzid/geni/pdf/knezevic-clanek.pdf> Dostop: 08-05-2014.
- [11] Frank NY, Pendse SS, Lapchak PH, et al. Regulation of progenitor cell fusion by ABCB5 P-glycoprotein, a novel human ATP-binding cassette transporter. *J. Biol. Chem.*, vol. 278, no. 47, pp. 47156–65, Nov. 2003.
- [12] Civenni G, Walter A, Kobert N, et al. Human CD271-positive melanoma stem cells associated with metastasis establish tumor heterogeneity and long-term growth. *Cancer Res.*, vol. 71, no. 8, pp. 3098–109, Apr. 2011.
- [13] Luo Y, Dallaglio K, Chen Y, et al. ALDH1A isozymes are markers of human melanoma stem cells and potential therapeutic targets. *Stem cells.*, vol. 30, no. 10, pp. 2100–2113.
- [14] Taghizadeh R, Noh M, Huh YH, et al. CXCR6, a newly defined biomarker of tissue-specific stem cell asymmetric self-renewal, identifies more aggressive human melanoma cancer stem cells. *PLoS One*, vol. 5, no. 12, p. e15183, Jan. 2010.
- [15] Kumar S, Liu S, Lu H, et al. Acquired cancer stem cell phenotypes through Oct4-mediated dedifferentiation. *Oncogene*, vol. 31, no. 47, pp. 4898–4911, 2012.
- [16] Monzani E, Facchetti F, Galmozzi E, et al. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumorigenic potential. *Eur. J. Cancer*, vol. 43, no. 5, pp. 935–46, Mar. 2007.
- [17] Schatton T, Murphy GF, Frank NY, et al. Identification of cells initiating human melanomas. *Nature*, vol. 451, no. 7176, pp. 345–9, Jan. 2008.
- [18] Girouard SD, Murphy GF. Melanoma stem cells: not rare, but well done. *Lab. Invest.*, vol. 91, no. 5, pp. 647–64, May 2011.
- [19] Grimm M, Krimmel M, Polligkeit J, et al. ABCB5 expression and cancer stem cell hypothesis in oral squamous cell carcinoma. *Eur. J. Cancer*, vol. 48, no. 17, pp. 3186–97, Nov. 2012.
- [20] Volpicelli ER, Lezcano C, Zhan Q, et al. The multidrug-resistance transporter ABCB5 is expressed in human placenta. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, vol. 33, no. 1, pp. 45–51, Jan. 2014.
- [21] Wilson B, Saab K, Ma J, et al. ABCB5 Maintains Melanoma-Initiating Cells through a Proinflammatory Cytokine Signaling Circuit. *Cancer Res.*, 2014.
- [22] Ozel C, Seidel J, Meyer-Staeckling S, et al. Hybrid cells derived from breast epithelial cell/breast cancer cell fusion events show a differential RAF-AKT crosstalk. *Cell Commun. Signal.*, vol. 10, no. 1, p. 10, Jan. 2012.
- [23] Tysnes BB, Bjerkvig R. Cancer initiation and progression: involvement of stem cells and the microenvironment. *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1775, no. 2, pp. 283–97, Jun. 2007.
- [24] Bis S, Tsao H. Melanoma genetics: the other side. *Clin. Dermatol.*, vol. 31, no. 2, pp. 148–55, 2013.
- [25] Frank N, Margaryan A, Huang Y. ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res.*, pp. 4320–4333, 2005.
- [26] Zipori D. The stem state: plasticity is essential, whereas self-renewal and hierarchy are optional. *Stem Cells*, vol. 23, no. 6, pp. 719–26.
- [27] Gupta PB, Chaffer CL, Weinberg RA. Cancer stem cells: mirage or reality? *Nat. Med.*, vol. 15, no. 9, pp. 1010–2, Sep. 2009.
- [28] Kawanobe T, Kogure S, Nakamura S, et al. Expression of human ABCB5 confers resistance to taxanes and anthracyclines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 418, no. 4, pp. 736–741, Feb. 2012.
- [29] Quintana E, Shackleton M, Foster HR, et al. Phenotypic heterogeneity among tumorigenic melanoma cells from patients that is reversible and not hierarchically organized. *Cancer Cell*, vol. 18, no. 5, pp. 510–23, Nov. 2010.
- [30] Quintana E, Shackleton M, Sabel M. Efficient tumour formation by single human melanoma cells. *Nature*, vol. 456, no. 7222, pp. 593–598, 2008.
- [31] Czyz M, Koprowska K, Sztiller-Sikorska M. Parthenolide reduces the frequency of ABCB5-positive cells and clonogenic capacity of melanoma cells from anchorage independent melanospheres. *Cancer Biol. Ther.*, vol. 14, no. 2, pp. 135–45, Feb. 2013.



NOVI PRISTOPI K ZDRAVLJENJU AKUTNE LIMFOBLASTNE LEVKEMIJE PRI OTROCIH NEW APPROACHES IN PEDIATRIC ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA TREATMENT

AVTOR / AUTHOR:

Doc. dr. Nataša Karas Kuželički, mag. farm.

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

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: natasa.karas@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Akutna limfoblastna levkemija (ALL) je najpogostejši rak otrok starih od 1 do 10 let. Predvsem zaradi uporabe visoko standardiziranih randomiziranih protokolov zdravljenja se je preživetje pediatričnih bolnikov z ALL v zadnji 50 letih izredno povečalo. Kljub temu pa 10-20% bolnikov z rezistentno obliko bolezni doživi relaps in večina teh tudi umre. Preživetje dojenčkov in odraslih z ALL pa je še slabše. Ker s stopnjevanjem agresivnosti obstoječih protokolov ni več možno izboljšati stopnje ozdravljivosti, kljub povečanju pojavnosti neželenih učinkov, je potrebno pri bolnikih z rezistentno ALL uporabiti nove terapijske pristope. Dosedanje klinične študije kažejo, da so najbolj obetavna zdravila, ki delujejo na genetskem in epigenetskem nivoju ter terapija s celicami, ki izražajo himerne antigenske receptorje (CAR), usmerjene izključno proti rakavim celicam. Uporaba omenjenih novih terapij pa bo vsaj še nekaj let ali desetletij omejena na bolnike z rezistentno oz. relapsirano obliko bolezni, predvsem zaradi še nejasnega varnostnega profila.

KLJUČNE BESEDE:

akutna limfoblastna levkemija, randomizirani protokoli zdravljenja, novi terapevtski pristopi

POVZETEK

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common cancer in 1 to 10 years old children. The survival rate of pediatric ALL patients has increased over last 50 years due to the application of highly standardized randomization treatment protocols. However, 10-20% of ALL patients will relapse and die in five year period after therapy completion. The survival rate of infants and adults with ALL is even worse. Increasing the cumulative doses of current protocols did not result in the improved survival rate, despite the higher incidence of toxic effects. Therefore, new therapeutic strategies are needed to improve the ALL therapy efficiency. The most promise hold the genetic and epigenetic drugs, as well as therapy with cells expressing chimeric antigen receptors (CAR), directed specifically towards cancer cells. Due to the unclear safety profile of the abovementioned therapeutics, these new approach-

hes will be at first focused only on patients with resistant ALL.

KEYWORDS:

acute lymphoblastic leukemia, randomized treatment protocols, new therapeutic approaches

Levkemija je rak krvnih celic in kostnega mozga. Na svetu odkrijejo letno okrog 350 000 novih primerov različnih tipov levkemij. Gre za heterogeno skupino bolezni, ki jo delimo glede na to katera vrsta celic je prizadeta (mieloidne ali limfoblastne) ter glede na hitrost napredovanja bolezni (akutne ali kronične). Akutna limfoblastna levkemija (ALL) predstavlja 13% primerov levkemij (1). Gre za maligno transformacijo progenitorskih B ali T limfocitnih celic, kar vodi v pretirano proliferacijo in posledično kopičenje malignih celic v kostnem mozgu. Zato pride do zavore normalne hematopoeze, kar pri bolniku povzroči anemijo, nagnjenost h krvavitvam ter zmanjšani imunski odziv (2). Bolezen se lahko pojavi v kateremkoli življenjskem obdobju, vendar je najbolj pogosta pri otrocih starih od 2 do 5 let, ter z incidenco 1: 2 000 predstavlja najpogostejši rak v otroški dobi (3). Drugi vrh pojavnosti ALL je pri starostnikih po 60 letu, vendar imajo ti bolniki veliko slabši izid bolezni kot pediatrični bolniki (1).

Etiologija bolezni je nejasna, vendar najnovejše raziskave kažejo, da vključuje *in utero* iniciacijo ter post-natalno promocijo. Oba procesa lahko sprožijo okoljski (ionizirajoče in ne-ionizirajoče sevanje ter infekcije) ali genetski (mutacije v različnih genih kot so IKZF1, ARID5B, CEBPE, CDKN2A, PAX5, JAK1 in 2, CRLF2, CREBBP,...) dejavniki (3). Do nastanka bolezni pride zaradi neprimernega imunskega odziva na banalne infekcije pri posameznikih z genetsko nagnjenostjo, pri katerih je prisoten *in utero* nastali pre-levkemični klon (3). Genetske spremembe pri ALL pa imajo tudi velik diagnostični in prognostični pomen, na osnovi katerega se odločimo za način zdravljenja. Najbolj pogoste kromosomske spremembe vključujejo hiperploidnost in ETV6-RUNX1 translokacijo, ki sta povezani z dobrim izidom, ter hipoploidnost, BCR-ABL1 translokacijo in preureditve MLL z različnimi geni, ki so povezane s slabim izidom bolezni. MLL preureditve so značilne za ALL v dojenčkovem obdobju, ki ima zelo slab izid (3).

Na preživetje bolnikov z ALL vpliva veliko dejavnikov, kot so starost in število levkocitov v periferni krvi ob diagnozi, spol, imuno-fenotip ter odziv na indukcijsko zdravljenje.

Preživetje se pri otrocih z ALL giblje okrog 90%, pri dojenčkih (starost < 1 leto) okrog 50%, pri odraslih bolnikih pa med 20 in 30% (4). Dodatni dejavniki, ki napovedujejo slab izid bolezni so: visoko število levkocitov ob diagnozi, moški spol, T-celična levkemija ter slabši odziv na indukcijsko zdravljenje (3).

1 KLASIČNI NAČINI ZDRAVLJENJA AKUTNE LIMFOBLASTNE LEVKEMIJE

Zdravljenje ALL, ki pri otrocih vključuje souporabo velikega števila zdravil, po navadi traja 2-3 leta in ima 4 faze: indukcijsko, konsolidacijsko, reindukcijsko in vzdrževalno. V različnih delih sveta se uporabljajo različni protokoli zdravljenja, ki pa so si v osnovi podobni. Gre za randomizirane protokole, katerih uspešnost in varnost se ocenjuje vsakih 5 let. Protokol za novo obdobje se potem oblikuje glede na rezultate predhodnega protokola. Zaradi tovrstnega pristopa velja zdravljenje ALL pri otrocih za enega izmed največjih uspehov medicine, saj se stopnja preživetja iz 5% v 50-ih letih prejšnjega stoletja danes povzpela na skoraj 90% (4).

V indukcijski fazi z uporabo glukokortikoidov (prednizon ali deksametazon), vinkristina, citarabina (ARA-C), antraciklinov, ciklofosfamida in asparaginaze poskušamo uničiti čim več levkemičnih celic ter vzpostaviti normalno hematopoezo (3, 5). Sledi konsolidacijska terapija, ki uniči preostale maligne celice, vključuje pa metoreksat (MTX) v visokih odmerkih in 6-merkaptopurin (6-MP), z ali brez pulzov vinkristina in glukokortikoidov (3). V reindukcijski fazi apliciramo enaka zdravila kot med indukcijo, vendar z dodatkom visokih ali srednjih doz MTX (5). Vzdrževalna faza je najdaljša (traja 2 ali več let) ter vključuje dnevne per os aplikacije 6-MP ter tedenske aplikacije MTX v nizkih odmerkih (3, 5). Za uspešnost terapije je zelo pomembno, da preprečimo preživetje levkemičnih celic v centralnem živčnem sistemu, ki bi lahko pozneje povzročile ponovitev bolezni. To dosežemo z obsevanjem centralnega živčnega sistema (CŽS) (12-18 Gy), vendar so zaradi resnih dolgoročnih neželenih učinkov v večini novejših protokolov le-to omejili na bolnike z zelo tveganimi oblikami ALL, pri ostalih bolnikih pa so ga nadomestili z intratekalnimi aplikacijami MTX (3, 6).

V primerjavi z otroci imajo odrasli bolniki z ALL veliko nižjo stopnjo preživetja. Nedavne raziskave kažejo, da imajo



odrasli, ki so bili zdravljeni po protokolih za otroke veliko večjo stopnjo ozdravitve kot tisti zdravljeni s protokoli za odrasle. Iz tega lahko sklepamo, da je glavni vzrok za slabši izid odraslih bolnikov razlika v protokolih zdravljenja, ne pa toliko v naravi bolezni med odraslimi in otroci. V primerjavi s protokoli za odrasle imajo pediatrični protokoli bolj intenzivno reindukcijsko fazo, višje kumulativne doze citostatikov ter daljšo vzdrževalno fazo (7).

2 PRESADITEV KOSTNEGA MOZGA ALI MATIČNIH CELIC IZ POPKOVNE KRVI

Za bolnike z zelo tvegano ali na citostatike neobčutljivo obliko bolezni, je najbolj primerna alogena transplantacija kostnega mozga. Na žalost pa pri dveh tretjinah bolnikov ne najdemo ustreznega sorodnega darovalca, iskanje nesorodnega pa lahko traja predolgo (3, 8).

Presaditev matičnih celic iz popkovne krvi lahko predvsem pri otrocih predstavlja učinkovito alternativo presaditvi kostnega mozga. Glavna prednost celic iz popkovne krvi je, da zaradi njihove nezrelosti, ni potrebno popolno ujemanje med darovalcem in prejemnikom. Novejše raziskave kažejo, da je manjše neujemanje lahko celo koristno, saj včasih presajene celice napadejo in uničijo maligne celice prejemnika (»graft-versus-leukemia« efekt). Presajanje lastnih celic iz popkovne krvi je vprašljivo, saj je pri večini otrok z ALL pre-levkemični klon prisoten že *in utero*. Glavna slabost popkovnih celic je, da v primerjavi z zrejšimi celicami kostnega mozga potrebujejo več časa za naselitev v kostni mozeg, kar podaljša čas ko je bolnik zelo dovzeten za infekcije. Tako imajo bolniki, ki so jim presadili celice iz popkovne krvi 2-3 krat večje tveganje, da bodo umrli zaradi infekcije kot tisti, ki so jim presadili kostni mozeg. Poleg tega popkovna kri vsebuje majhno število matičnih celic, zato celice enega darovalca zadostujejo kvečjemu za zdravljenje otroka (8). Pri odraslih od leta 2001 poskušajo s kombiniranjem popkovnih celic dveh nesorodnih darovalcev. Analiza 128 bolnikov, ki so jim presadili celice dveh različnih darovalcev kaže, da imajo manjšo pojavnost ponovitev bolezni in zavrnitvenih reakcij, ter podobno stopnjo preživetja kot bolniki s transplantiranim kostnim mozgom (9).

3 NOVE TERAPIJE AKUTNE LIMFOBLASTNE LEVKEMIJE

Kljub neverjetnemu napredku v terapiji ALL, imajo nekateri tipi te bolezni še vedno zelo slabo prognozo (npr. ALL dojenčkov z MLL translokacijami in BCR-ABL ALL). Čeprav kar 99% otrok z ALL doseže remisijo bolezni po indukcijskem zdravljenju, pa jih je trajno ozdravljenih le 70-80% (4). Nadaljnje povečanje intenzitete obstoječih protokolov zdravljenja verjetno ne bo izboljšalo njihove učinkovitosti, ampak bo povečalo pojavnost nevarnih kratkoročnih in dolgoročnih neželenih učinkov, kot se je izkazalo na primeru protokola BFM IC 2002, ki vključuje povečano kumulativno dozo deksametazona. Kljub večji agresivnosti kemoterapije, BFM IC 2002 ni znižal pojavnosti relapsov v primerjavi s predhodnim protokolom, povečalo pa se je število neželenih učinkov, ki vplivajo na preživetje (zavora kostnega mozga, sepsa) in kvaliteto življenja (osteonekroza kolka) bolnikov (osebna korespondenca prof. dr. Janez Jazbec, Oddelek za onkologijo in hematologijo, Pediatrična klinika Ljubljana). Zato so potrebna nova zdravila in dostavni sistemi učinkovin ter novi pristopi k zdravljenju ALL. Trenutno potekajo raziskave na sledečih področjih:

- Novi dostavni sistemi obstoječih učinkovin
- Novi antimetaboliti
- Novi nukleozidni analogi
- Monoklonska protitelesa proti ALL površinskim antigenom
- Učinkovine katerih tarča so genetske spremembe v levkemičnih celicah
- Učinkovine, ki delujejo na epigenetskem nivoju
- Terapija CAR (chimeric antigen receptor)

3.1 NOVI DOSTAVNI SISTEMI OBSTOJEČIH ZDRAVIL

Z vključevanjem standardnih kemoterapevtikov v liposome lahko izboljšamo njihov terapevtski indeks. Trenutno se v različnih fazah testiranja nahaja več zdravil.

Najbolj obetavna je **PEG-asparaginaza**, ki nastane s kovalentno vezavo *E.coli* asparaginaze na monometoksi polietilenglikol. V primerjavi z nativnim encimom je za PEG-asparaginazo značilna manjša alergičnost ter petkrat daljši razpolovni čas, kar omogoča manj pogosto aplikacijo zdravila. V Sloveniji se PEG-asparaginaza trenutno uporablja le pri bolnikih z alergijo na nativni *E.coli* encim, v ZDA pa je

FDA odobrila njeno uporabo pri vseh na novo diagnosticiranih bolnikih z ALL. V redkih primerih alergije na PEG-asparaginazo uporabimo nativno *Erwinia* asparaginazo, ki pa je veliko manj učinkovita kot *E.coli* encim (2, 5).

Liposomalni citarabin se je izkazal za učinkovitega predvsem pri zdravljenju neoplastičnega meningitisa pri otrocih z različnimi vrstami raka (2). V različnih fazah kliničnih študij se nahajajo tudi **liposomalni antraciklini in vinkristin**, vendar so tu rezultati nekoliko manj obetavni (2).

Zanimivi so tudi **dostavni sistemi klasičnih citostatikov z nanodelci**, ki pa večinoma še niso bili testirani na ljudeh. Nedavno so razvili mezoporozne silikatne nanodelce z amino in tiolnimi skupinami, na katere so vezali MTX in 6-MP, ki se skupaj uporabljata pri vzdrževalni terapiji ALL. Največja prednost opisanega sistema je, da prepreči razgradnjo MTX in 6-MP preden zdravili dosežeta terapevtsko mesto, kar močno poveča biološko uporabnost obeh učinkovin in omogoča manj pogosto administracijo citostatikov. Omenjeni učinek nastane zaradi lastnosti disulfidne in amidne vezi, ki se zaradi razlik v ekstra in intracelularnem GSH in pH, cepita le znotraj celic. Omenjeni nanodelci so v študiji na podganah dali obetajoče rezultate (10).

3.2 NOVI ANTIMETABOLITI

Metotreksat, ki je inhibitor dihidrofolat reduktaze (DHFR), se uporablja v terapiji že več desetletij. Zaradi relativno ugodnega varnostnega profila ima centralno vlogo v terapiji ALL. Novejši antimetaboliti imajo boljšo sposobnost transporta v celico ter izboljšan poliglutamacijski profil, kar preprečuje njihov izstop iz celic. Večino so preučevali v povezavi s solidnimi tumorji, **talotreksin** (inhibitor multiplih tarč) in **pemetreksed** (inhibitor sinteze purinov) pa sta v fazi kliničnega testiranja pri bolnikih z relapsom ALL (2).

3.3 NOVI NUKLEOZIDNI ANALOGI

Ozko terapevtsko območje dveh adenozijskih analogov kladribina in fludarabina je močno omejilo njuno uporabnost. Predvsem zaradi problemov z nevrotoksičnostjo so razvili nove nukleozidne analoge **klofarabin, nelarabin in forodezin**.

Klofarabin je strukturno podoben kladribinu, vendar ima zaradi modifikacij osnovne molekule večjo biološko uporabnost. Poleg tega pa je iz njegove strukture onemogočeno sproščanje halogeniranega adenina, ki je odgovoren za nastanek nevrotoksičnosti pri kladribinu. Klofarabin se

je izkazal za učinkovitega in varnega tako pri odraslih kot otrocih z relapsirano ALL: popolno remisijo je doseglo 15-17% odraslih ter 20-24% pediatričnih bolnikov, nihče izmed bolnikov pa ni razvil nevrotoksičnosti. Na osnovi tega je bil klofarabin odobren po pospešenem postopku v ZDA in Evropi za zdravljenje relapsirane ALL pri pediatričnih bolnikih (2).

Nelarabin se je izkazal za učinkovitega predvsem pri zdravljenju neodzivne ali relapsirane T-celične ALL, za kar je tudi prejel odobritev leta 2005 tako v ZDA kot v Evropi, čeprav se je v visokih odmerkih izkazal za nevrotoksičnega (2).

Forodezin izkazuje selektivno toksičnost do T-limfocitov in je trenutno v klinični fazi testiranja za T-ALL (11). Preliminarni rezultati kažejo, da ima podobno delovanje kot nelarabin, vendar je manj nevrotoksičen (2).

Mehanizmi delovanja klasičnih načinov zdravljenja ALL ter novih antimetabolitov in nukleozidnih analogov so prikazani na Sliki 1.

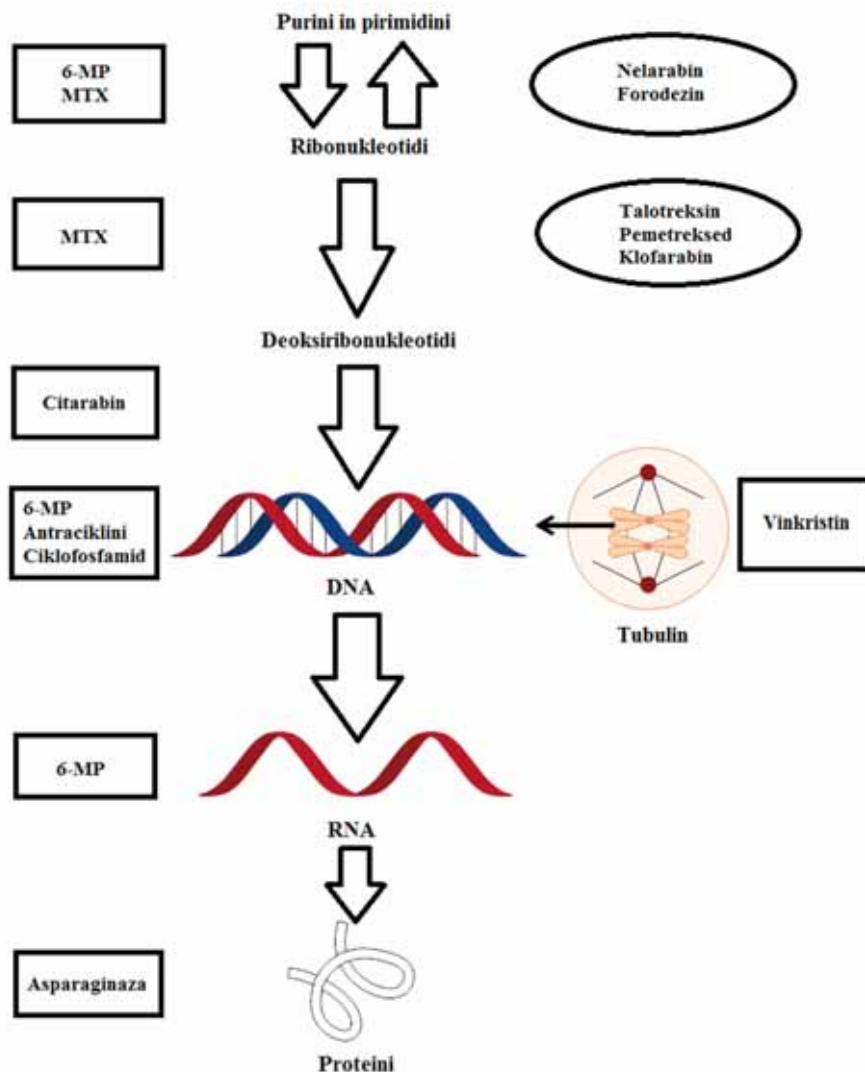
3.4 MONOKLONSKA PROTITELESA PROTI POVRŠINSKIM ANTIGENOM

Površinski antigeni, ki ji izražajo posamezne vrste levkemičnih celic, so se izkazali za dobre tarče za terapijo z monoklonskimi protitelesi (mPt), ki so lahko prosta ali pa konjugirana s citostatiki oz. radioaktivnimi molekulami. Bispesifična mPt omogočajo terapijo z antigen specifičnimi citotoksičnimi T-limfociti, kar predstavlja nadgradnjo klasične terapije z mPt. Glavna omejitev mPt je, da se tarčni površinski antigeni izražajo tudi v normalnih celicah, kar zmanjšuje njihovo terapevtsko specifičnost (2).

Rituksimab je humanizirano anti-CD20 protitelo, ki je tudi prvo mPt, ki je bilo odobreno za terapevtsko uporabo. CD20 izražajo skoraj vse normalne in rakave B-celice ter 40-50% B-ALL blastov. Najbolj pogosto se uporablja pri zdravljenju B-celičnega ne-Hodgkinovega limfoma (NHL) pri odraslih in otrocih. Ker pa CD20 nima prognostične vrednosti pri ALL, je njegova uporaba na tem področju omejena na relapsirano B-ALL (2, 12).

Epratuzumab je humanizirano mPt proti CD22, ki se izraža pri > 95% primerov B-ALL pri otrocih. Rezultati preliminarnih študij na mlajših odraslih in pediatričnih bolnikih z zgodnjim relapsom ALL so bili obetavni (12). Obstajajo tudi konjugirane oblike epratuzumaba: **Inotuzumab ozogami-**





Slika 1: Konvencionalna zdravila za zdravljenje ALL in njihove novejšje oblike delujejo v vseh fazah celičnega cikla. Presnovki 6-MP inhibirajo de novo sintezo purinov ali sprožijo apoptozo z vgrajevanjem v DNA in RNA. MTX, talotreksin in pemetreksed inhibirajo različne encime folatnega cikla, kar vodi v pomanjkanje tetrahidrofolata in posledično zmanjšano sintezo purinov in s tem tudi DNA. Klofarabin inhibira ribonukleotidno reduktazo, nelarabin in forodezin pa purinsko nukleozidno fosforilazo, kar vodi v moteno presnovo nukleotidov. Citarabin prekine podaljševanje DNA verige z vgrajevanjem v DNA in inhibicijo DNA polimeraze. Antraciklini se vežejo na topoizomerozo II in preprečujejo njeno odcepitev od DNA, kar vodi v prelome dvojne vijačnice. Ciklofosfamid povzroči fragmentacijo DNA s premreženjem znotraj in med verigami DNA. Asparaginaza povzroči pomanjkanje asparagina v levkemičnih celicah, kar moti sintezo proteinov. Vinkristin inhibira mitozo z vezavo na tubulin (2).

Figure 1: Conventional drugs used in ALL therapy and their novel modifications act in all phases of cell cycle. Metabolites of 6-MP inhibit de novo purine synthesis or induce apoptosis due to the incorporation into DNA and RNA. MTX, talotrexin and pemetrexed inhibit several enzymes of the folate cycle, which leads to the tetrahydrofolate depletion and decreased purine and DNA synthesis. Clofarabine inhibits ribonucleotide reductase and nelarabine and forodesine purine nucleoside phosphorilase, thus disturbing nucleotide metabolism. Cytarabine inhibits DNA polymerase and incorporates into DNA, thus terminating strand elongation. Anthracyclines bind to topoisomerase II, leading to double-stranded DNA breaks. Cyclophosphamide cross-links with DNA and thereby induces DNA fragmentation. Asparaginase deprives leukemic cells of asparagine, thus disrupting protein synthesis. Vincristine inhibits mitosis by binding to tubulin (2).

cin, kjer je na mPt vezan citotoksični antibiotik kalikeamcin, ter **CAT-3888** in **moksetumomab pasudotox**, ki sta konjugata z eksotoksični *Pseudomonasa*. **Radioaktivni konjugat epratuzumaba z itrijem 90**, so študirali pri odraslih bolnikih z relapsom ALL, medtem ko se pri otrocih uporablja le za pripravo na transplantacijo kostnega mozga (12). **Alemtuzumab** je humanizirano mPt proti CD52, ki je bolj učinkovit pri medularni kot ekstramedularni ALL (2).

Anti CD19 mPt so se izkazala za neučinkovita, kljub temu, da se izražajo skoraj pri vseh bolnikih z B-ALL. Boljše rezultate dosega anti-CD19 konjugat z močnim inhibitorjem tubulina DM4 (**SAR3419**), ki je dal obetavne rezultate v predkliničnih študijah (12). **Blinatumomab** je novo bi-specifično protitelo, ki se veže tako na CD19, ki ga izražajo tumorske celice, kot na CD3, ki ga izražajo T-limfociti. Na ta način usmerimo citotoksične T-limfocite k uničevanju levkemičnih blastnih celic (12). Prvi rezultati multicentrične študije na odraslih bolnikih z relapsom ALL in v manjši skupini pediatričnih bolnikov z ALL so zelo obetavni (13, 14), zato bodo zdravilo testirali tudi na večji skupini otrok z neodzivno ali relapsirano obliko bolezni (NCT 01471782) (12).

3.5 UČINKOVINE KATERIH TARČA SO GENETSKE SPREMEMBE V LEVKEMIČNIH CELICAH

Večina zgoraj opisanih terapevtskih pristopov pa je omejena z večjo ali manjšo stopnjo nespecifičnosti, kar pomeni, da terapija poleg malignih uniči tudi določeno število zdravih celic, to pa posledično vodi v pojav neželenih učinkov zdravila. Z napredkom znanja na področju genomike, transkriptomike in proteomike je prišlo do razvoja bolj specifično delujočih zdravil, katerih delovanje je usmerjeno na genetske in druge spremembe, ki so prisotne izključno v rakavih celicah. Na ta način se je zelo izboljšala varnost in učinkovitost terapije, vendar pa pri tej skupini zdravil glavni izziv predstavlja rezistenca nekaterih tipov levkemij oz. subpopulacij malignih celic na omenjeno terapijo. V nadaljevanju je opisanih nekaj najbolj obetavnih predstavnikov omenjene skupine zdravil.

Imatinib je bil prvo zdravilo s specifičnim delovanjem na malignim celicam lastno spremembo. Je inhibitor tirozinske kinaze BCR-ABL, ki je prisotna samo v maligno spremenjenih celicah. Nastane s kromosomsko translokacijo med kromosomoma 9 in 22, kar vodi v nastanek fuzijskega gena *BCR-ABL*. Le-ta kodira encim, ki promovira celično signalizacijo in rast. Imatinib se uporablja predvsem v te-

rapiji CML, učinkovit pa je tudi pri BCR-ABL pozitivni ALL, T-ALL z NUP214-ABL1 translokacijo ter ALL z ekstrakromosomsko amplifikacijo *ABL1* (2, 15). Glavni problem pri terapiji z imatinibom predstavlja nastanek rezistence pri eni tretjini bolnikov s CML (15). Do rezistence pride v večini primerov zaradi točkovnih mutacij (npr. T315I) v kinazni domeni *ABL*, kar preprečuje vezavo imatiniba na proteinski produkt BCR-ABL. Omenjene mutacije so velikokrat prisotne v subpopulacijah blastnih celic že pred začetkom terapije (16). Ker je pri akutnih levkemijah (ALL in AML) hitrost nastanka mutacij v blastnih celicah veliko večja v primerjavi s CML, je problem rezistence na imatinib pri ALL bolnikih še večji (15). Zato pri bolnikih z ALL imatinib ponavadi uporabljamo v kombinaciji z drugimi citostatiki, razvili pa so že celo vrsto **inhibitorjev tirozinske kinaze druge generacije**, ki učinkujejo tudi na imatinib rezistene celice (2). Eno izmed najbolj obetavnih inhibitorjev druge generacije je **ponatinib**, ki je bil konec leta 2012 odobren s strani FDA za zdravljenje CML in ALL. Le-ta deluje na celice z *BCR-ABL* mutacijo T315I, ki predstavlja 20% mutacij odgovornih za rezistenca na imatinib (15). V oktobru 2013 je FDA začasno ustavila prodajo omenjenega zdravila zaradi povečanega tveganja za nastanek življenja ogrožajočih krvnih strdkov (17).

Uspeh imatiniba je spodbudil razvoj inhibitorjev drugih tirozinskih kinaz. Najbolj obetavne rezultate dajejo **inhibitorji FLT3 (Fms-like tyrosine kinase-3)**, ki so najbolj učinkoviti proti AML, pa tudi proti ALL z MLL translokacijo (ALL dojenčkov), KIT(CD117) pozitivni ALL ter hiperploidni ALL (2). Aktivirajoče mutacije *FLT3* spodbujajo proliferacijo in preživetje malignih celic in so prisotne pri 25% bolnikov z AML (2, 15). Do sedaj najbolj uspešen predstavnik te skupine zdravil je **kvizartinib**, ki se nahaja v fazi II kliničnega testiranja (15). Tudi v tej skupini zdravil obstaja problem rezistence, ki pa ga rešujejo s kombinirano terapijo s klasičnimi citostatiki. Nedavna identifikacija mutacijskega repertoarja FLT3 pa omogoča sintezo mutacijsko specifičnih inhibitorjev FLT3 (18).

V različnih fazah testiranja za terapijo ALL pa so tudi sledeče skupine zdravil, ki pa za enkrat kažejo manj obetavne rezultate: **inhibitorji mTOR** (rapamicin, temsirolimus, everolimus), **inhibitorji γ -sekretaze**, **inhibitorji CDK** (flavopiridol), **anti-BCL2 terapija** (oblimersen) in **antagonisti HSP90** (geldanamycin, 17-AAG) (2).



3.6 UČINKOVINE, KI DELUJEJO NA EPIGENETSKEM NIVOJU

Kljub relativni uspešnosti citostatikov usmerjenih na genetske tarče, pa se v zadnjih letih vedno bolj raziskujejo tudi epigenetski mehanizmi onkogeneze in z njimi povezane epigenetske tarče, ki so lahko osnova za učinkovito terapijo ALL in drugih vrst raka. Epigenetske modifikacije DNA (metilacija) in histonov (deacetilacija, metilacija, ...) lahko z utišanjem ali ojačenjem izražanja določenih genov pomembno prispevajo k procesu onkogeneze (19). Ker so omenjene epigenetske modifikacije reverzibilne, so molekule z vplivom na njihovo dodajanje in odstranjevanje potencialna zdravila proti raku. Prva tovrstna zdravila predstavljajo **inhibitorji DNA metiltransferaz (5-azacitidin in decitabin)** ter **inhibitorji histonskih deacetilaz (butirat in njegovi derivati, depsiptid, valprojska kislina in vorinostat)** (2). Kljub prvotnemu navdušenju, pa se je izkazalo, da omenjene skupine učinkovin sicer dobro delujejo na celičnih in živalskih modelih, so pa manj učinkovite pri zdravljenju bolnikov z levkemijo. Dodatni problem pa je predstavljala določena stopnja nespecifičnosti teh zdravil, kar je imelo za posledico pojav neželenih učinkov (15).

Zaradi navedenih omejitev, so se raziskovalci usmerili v razvoj zdravil, katerih tarče so molekule z vplivom na epigenetske modifikacije, ki pa se nahajajo izključno v maligno transformiranih celicah. Gre za proteinske produkte spremenjenih genov, bodisi zaradi točkovnih mutacij, bodisi zaradi translokacij in drugih kromosomskih preureditev. Prvo učinkovito in specifično epigenetsko zdravilo za ALL, ki se trenutno nahaja v fazi I testiranja, je **inhibitor DOT1L (EPZ5676)**. DOT1L je histonska H3 metiltransferaza, ki metilira le histone, ki se nahajajo v nukleosomih. Pretirana aktivnost DOT1L vodi v aktivacijo normalno utišanih genov, kar lahko povzroči maligno transformacijo (19). Že leta 2005 so ugotovili, da spremenjen oz. mutiran MLL gen pospešuje metilacijo histonov s strani DOT1L. Translokacije, ki vključujejo MLL so pogoste pri različnih vrstah levkemij in so prisotne pri večini primerov ALL v dobi dojenčka. Fuzijski gen MLL-AF10 veže DOT1L (AF10 domena) in DNA (MLL domena) in tako omogoči povečano metilacijo histonov (20). Z inhibitorji DOT1L, ki se vežejo na MLL-AF10-DOT1L kompleks lahko preprečimo pretirano metilacijo histonov, hkrati pa delovanje zdravila omejimo le na celice s prisotno MLL-AF10 translokacijo (rakave celice) (21).

Primer inhibitorjev DOT1L kaže, da so epigenetska zdravila proti raku perspektivno raziskovalno področje, hkrati pa

nakazuje, da bodo za razvoj visoko učinkovitih in specifičnih citostatikov potrebne raziskave na večplastnih modelih z visoko stopnjo kompleksnosti.

3.7 TERAPIJA S CELICAMI, KI IZRAŽAJO HIMERNE ANTIGENSKRE RECEPTORJE

Eno izmed novejših in zelo obetavnih terapij ALL (in drugih hematoloških rakov) predstavlja terapija z gensko spremenjenimi T-limfociti, ki izražajo himerne antigenske receptorje (CART). CAR se lahko vežejo na širok spekter tumor-specifičnih antigenov, ki jih izražajo maligno spremenjene celice na svoji površini. Prednost CART pred drugimi vrstami celične terapije raka je, da se izognemo toleranci proti lastnim antigenom ter da vezava CAR na tumorske celice ne zahteva predstavitve tumorskih antigenov preko MHC molekul. Veliko rakavih celic namreč ne izraža MHC, s čemer se izogonej prepoznani in uničeni s strani imunskega sistema (22).

Prvo generacijo CAR predstavljajo molekule s tremi glavnimi domenami: (i) iz protitelesa izhajajoči fragment (scFv), ki prepozna in se veže na tumorski antigen (po navadi CD19), (ii) transmembranska domena in (iii) intracelularna z domena kompleksa T-celičnega receptorja (CD3z), ki prenaša signal s površine celice v jedro. Čeprav so bili CART prve generacije učinkoviti proti tumorskim celicam, pa je bila njihova življenjska doba *in vivo* zelo kratka, zaradi pomanjkanja različnih ko-stimulatornih signalov, ki zagotavljajo preživetje T-limfocitov *in vivo*. Uvedba ene ali dveh dodatnih intracelularnih ko-stimulatornih signalnih domen (CD28 in/ali 4-1BB) pri CART druge in tretje generacije je povečala preživetje in proliferacijo CART, prišlo pa je tudi do nastanka spominskih CART celic, kar zagotavlja trajno zaščito pred ekspanzijo malignih celic (22). Za vnos CAR genov v celice se uporabljajo različne metode. Tiste, ki temeljijo na ne-virusni transfekciji so dokaj neučinkovite, retrovirusni in lentivirusni vektorji pa so povezani z večjimi stroški proizvodnje (22).

Do sedaj je bilo zaključenih 14 kliničnih študij uporabe CART v terapiji hematoloških rakov. Večina uporabljenih CART je bila usmerjenih proti CD19, ki se izraža na B-celicah (tako zdravih kot maligno transformiranih). Večina bolnikov v omenjenih študijah je imela diagnozo CLL, ostali pa ALL ali različnih vrst limfomov. Presenetljivo so ugotovili, da je bila CART terapija najbolj učinkovita pri bolnikih z ALL, ki so imeli v povprečju 80% odzivnost na terapijo (22). Skupaj je bilo s CART metodo zdravljenih 8 bolnikov z rezii-

stentno oz. relapsirano ALL; od tega jih je ozdravljenih 6, pri dveh pa je prišlo do ponovnega relapsa bolezni, vendar tokrat maligni klon ni izražal CD19 (23). Pri nobenem izmed ALL bolnikov ni prišlo do smrti zaradi CART terapije (22). Zanimivo je, da so po terapiji CART zaznali tudi v cerebrospinalni tekočini pediatričnih ALL bolnikov (23), kar je izredno pomembno s stališča preprečevanja relapsa, saj je CZS glavni rezervoar na klasično kemoterapijo rezistentnih malignih celic. Trenutno je v teku 11 kliničnih študij (večina v fazi I ali II) za uporabo CART za zdravljenje ALL (22). Omenjene študije potekajo na 7 različnih inštitucijah (5 v ZDA, ena v Veliki Britaniji in ena na Kitajskem) (22). 3 študije so usmerjene izključno na pediatrične ALL bolnike, pri čemer so vključeni le bolniki z rezistentno oz. relapsirano obliko bolezni. Pri pediatričnih bolnikih je obetavna tudi uporaba CART po alogeni transplantaciji kostnega mozga, v smislu preprečevanja relapsa (24).

Pri vseh bolnikih je CART terapija sprožila določeno stopnjo toksičnosti v obliki povišane telesne temperature, pri nekaterih pa je prišlo do reverzibilnih nevroloških motenj. Omenjeni simptomi so posledica t.i. citokinskega sindroma (CS), katerega intenziteta korelira s količino tumorskih celic pred začetkom zdravljenja. Neželeni učinki nastanejo zaradi masivnega sproščanja citokinov (predvsem IL-6) s strani umirajočih tumorskih in normalnih B-celic ter aktiviranih makrofagov, ki fagocitirajo odmrle celice (22). Pri večini bolnikov lahko omenjene simptome ublažimo z anti-citokinsko (tocilizumab) ali imuno-supresivno (kortikosteroidi) terapijo, vendar pa ni še popolnoma jasno ali omenjena zdravila vplivajo tudi na proti-tumorsko učinkovitost CART (22). Drugi pomemben neželeni učinek je aplazija B-celic in posledično hipo-gamaglobulinemija. Le-ta je popolnoma obvladljiva z infuzijami γ -globulinov, kar pa dodatno podraži terapijo (22). Ker je močno anti-tumorsko delovanje CART povezano s potencialno življenje ogrožajočimi akutnimi neželenimi učinki kot je CS, bo za povečanje varnostni tovrstne terapije potrebno v CAR celice vgraditi t.i. samomorilske gene, ki lahko v kratkem času uničijo večino CART v telesu. Primer takega samomorilskega gena je inducibilna kaspaza 9 (iCasp9), ki je fuzijski gen humane kaspaze 9 in modificiranega humanega FK-vezočega proteina (FKBP). FKBP veže drugače inertno molekulo AP1903 in s tem sproži dimerizacijo iCasp9, kar vodi v aktivacijo kaspaze, le-ta pa sproži apoptozo v celicah, ki so nosilke iCasp9 genskega konstrukta. Pri petih pediatričnih bolnikih z relapsirano ALL po presaditvi kostnega mozga, je en odmerek AP1903 povzročila eliminacijo >90% modificiranih T-celic v 30 minutah po aplikaciji (25).

Glavna omejitev CART terapije je, da je visoko individualizirana, saj je potrebno izdelati zdravilo za vsakega bolnika posebej iz njegovih lastnih celic. To je vzrok za izredno visoke stroške. Posledično je terapija dostopna le majhnemu številu bolnikov (26). Če bi lahko CAR celice za vse bolnike izdelali iz istega vira, bi se cena terapije znižala za približno štirikrat (27). Glavni problem aplikacije CART, ki izvirajo iz bolniku nesorodnih darovalcev, bi bilo uničenje omenjenih celic s strani bolnikovega imunskega sistema. Temu se lahko izognemo z eliminacijo imunogenih molekul kot so na primer humani levkocitni antigeni (HLA). Raziskovalcem je že uspelo odstraniti HLA I iz CART s pomočjo nukleaz cinkovih prstov (ZNF), ki so jih v CAR celice vnesli z elektrotransferjem mRNA zapisa za ZNF (28), kar je pomemben korak naprej k množični proizvodnji CART. Potencial CART za prenos iz akademskih inštitucij v farmacevtsko industrijo pa je priznala tudi FDA v nedavnem osnutku Smernic za zgodnje testiranje celičnih in genskih terapij v industriji (29).

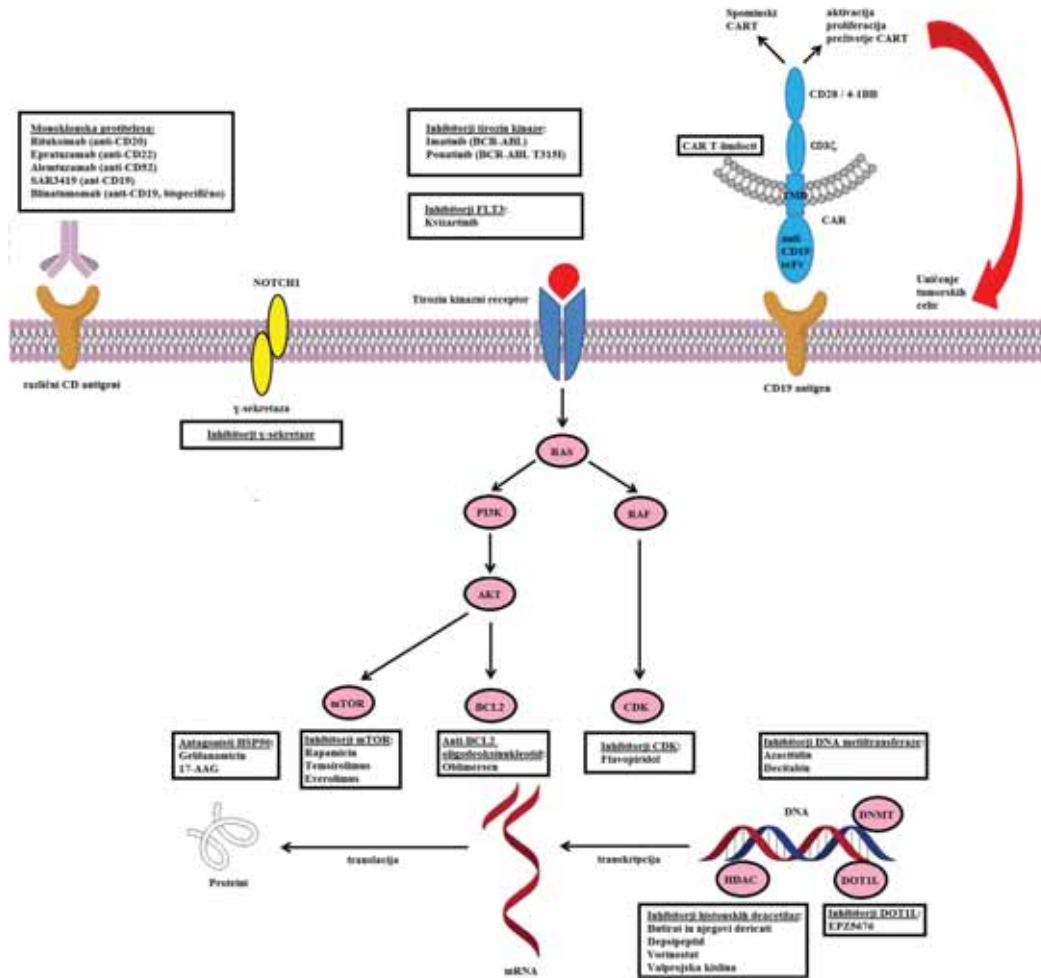
Čeprav so v večini CAR študij kot efektorske celice uporabili T-limfocite, pa novejša raziskava kažejo, da je terapija še bolj učinkovita, če s CAR transformiramo hematopoetske matične celice (30) ali celice naravne ubijalke (NK celice). Prednost NK celic v primerjavi s T-limfociti je manjše tveganje za nastanek CS, slabost pa krajša življenjska doba in odsotnost spominskih celic (24). Trenutno sta dve študiji NK CAR celic (ena v ZDA in ena na Kitajskem) v fazi rekrutiranja bolnikov (24).

Mehanizmi delovanja novih terapij ALL so prikazani na Sliki 2.

4 SKLEP

V Sloveniji je pediatrična populacija bolnikov z ALL zdravljena po klasičnem pristopu z uporabo randomiziranih protokolov. Slovenski pediatri-onkologi sodelujejo v mednarodni skupini, ki kot osnovo uporablja Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) protokol, ki je bil prvotno razvit v Nemčiji. Omenjeni protokoli se pri nas uporabljajo od leta 1983 in se posodablajo približno vsakih 5 let. Pri nas se nova zdravila za zdravljenje otrok z ALL ne uporabljajo, bolniki z rezistentno oz. relapsirano obliko bolezni se zdravijo s presaditvijo kostnega mozga.





Slika 2: Poenostavljena shema tarčnih mest novih terapij ALL. Z ligandi sprožena dimerizacija tirozin kinaznih receptorjev vodi do aktivacije RAS/RAF signalne poti, ki regulira celično preživetje in apoptozo. Učinkovine, ki delujejo na to signalno pot so: inhibitorji tirozin kinaze in FLT3, inhibitor CDK flavopiridol, ki prekine transkripcijo, anti-BCL2 oligodeoksinukleotid oblimersen, ki z vezavo na BCL2 mRNA zmanjša ekspresijo BCL2 ter s tem poveča občutljivost tumorskih celic na radiacijo in kemoterapijo in inhibitorji mTOR, ki vplivajo na translacijo. Antagonisti HSP90 motijo pravilno zvijte proteinskih molekul in s tem povečajo njihovo dovzetnost za proteasomsko razgradnjo. Inhibitorji DNA metiltransferaze, histonskih deacetilaz in histonske metiltransferaze DOT1L preko epigenetskih mehanizmov vplivajo na izražanje genov, katerih produkti sodelujejo pri regulaciji celičnega cikla, preživetja celic in apoptoze. Inhibitorji γ -sekretaze preprečujejo prenos NOTCH1 v jedro in posledično njegov vpliv na izražanje genov. Površinski antigeni tumorskih celic služijo kot trače za monoklonska protitelesa. CART terapija pa temelji na prepoznavi tumorskih celic s strani s himernimi antigenskimi receptorji (CAR) transformiranih T-limfocitov, ki se posledično aktivirajo in uničijo rakave celice.

Figure 2: A simplified diagram of molecular target sites for new ALL therapeutic agents. Signals generated by the ligand-induced dimerization of tyrosine kinase receptors activate the RAS/RAF pathway, which regulates cell survival and apoptosis. Agents targeting this pathway are: tyrosine kinase and FLT3 inhibitors, CDK inhibitor flavopiridol that interrupts transcription, anti-BCL2 oligodeoxynucleotide oblimersen that blocks expression of BCL2 by binding to its mRNA and thus sensitizes cancer cells to radiation and chemotherapy, and mTOR inhibitors that influence translation. HSP90 antagonists disrupt correct protein folding and thus increase their susceptibility to proteasomal degradation. Inhibitors of DNA methyltransferase, histone deacetylase and histone methyltransferase DOT1L regulate expression of genes involved in cell cycle, survival and apoptosis through several epigenetic mechanisms. γ -secretase inhibitors interfere with NOTCH1 transfer to nucleus and thus prevent its influence on gene expression. Surface antigens serve as targets for treatment with monoclonal antibodies. CART therapy is based on the tumor cell recognition by chimeric antigen receptors (CAR) transformed T-lymphocytes. This leads to CAR T-lymphocyte activation and killing of cancer cells.

Stopnja preživetja bolnikov z ALL (predvsem pediatričnih) se je v zadnjih 50 letih drastično povečala, kar je predvsem posledica uporabe visoko standardiziranih randomiziranih protokolov zdravljenja ter multi-disciplinarnega, multi-centričnega in internacionalnega pristopa k terapiji in raziskavam povezanim z njo. Manjšo vlogo so pri izboljšanju izida zdravljenja imela nova zdravila, vendar strokovnjaki ocenjujejo, da z večanjem agresivnosti obstoječih protokolov zdravljenja, ne bo možno doseči 100% ozdravljivosti ALL in bo potrebno poseči po novih zdravilih in terapevtskih pristopih. Ta potreba je še posebno izražena pri odraslih bolnikih ter dojenčkih z ALL, kjer je stopnja preživetja dvakrat nižja kot pri otrocih. Kljub obetavnim rezultatom kliničnih študij nekaterih novih zdravil za zdravljenje ALL (predvsem tistih, ki delujejo na genetskem in epigenetskem nivoju ter CART), pa bo vsaj še nekaj desetletij uporaba omenjenih terapij omejena na bolnike z rezistentno oz. relapsirano obliko bolezni, predvsem zaradi še nejasnega varnostnega profila (predvsem dolgoročnega) omenjenih terapevtskih pristopov.

5 LITERATURA

1. Elert E. Living with leukaemia. *Nature*. 2013 Jun 27;498(7455):S2-3.
2. Pui CH, Jeha S. New therapeutic strategies for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Drug Discov*. 2007 Feb;6(2):149-65.
3. Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 2013 Jun 1;381(9881):1943-55.
4. Jazbec JR, V. Karas-Kuzelicki, N. Leukemije otroške dobe. *Zdravniški vestnik*. 2008;77:5.
5. Seibel NL. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: peaks and pitfalls. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008:374-80.
6. Carmichael M. Drug safety: double jeopardy. *Nature*. 2013 Jun 27;498(7455):S14-5.
7. Ram R, Wolach O, Vidal L, Gafter-Gvili A, Shpilberg O, Raanani P. Adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia have a better outcome when treated with pediatric-inspired regimens: systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol*. 2012 May;87(5):472-8.
8. Moyer MW. Cell banks: life blood. *Nature*. 2013 Jun 27;498(7455):S16.
9. Brunstein CG, Gutman JA, Weisdorf DJ, Woolfrey AE, Defor TE, Gooley TA, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood. *Blood*. 2010 Nov 25;116(22):4693-9.
10. Wang W, Fang C, Wang X, Chen Y, Wang Y, Feng W, et al. Modifying mesoporous silica nanoparticles to avoid the metabolic deactivation of 6-mercaptopurine and methotrexate in combinatorial chemotherapy. *Nanoscale*. 2013 Jul 21;5(14):6249-53.
11. Robak P, Robak T. Older and new purine nucleoside analogs for patients with acute leukemias. *Cancer Treat Rev*. 2013 Dec;39(8):851-61.
12. Barth M, Raetz E, Cairo MS. The future role of monoclonal antibody therapy in childhood acute leukaemias. *Br J Haematol*. 2012 Oct;159(1):3-17.
13. Topp MS, Gokbuget N, Zugmaier G, Degenhard E, Goebeler ME, Klingler M, et al. Long-term follow-up of hematologic relapse-free survival in a phase 2 study of blinatumomab in patients with MRD in B-lineage ALL. *Blood*. 2012 Dec 20;120(26):5185-7.
14. Topp MS, Kufer P, Gokbuget N, Goebeler M, Klingler M, Neumann S, et al. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 20;29(18):2493-8.
15. Katsnelson A. Drug development: target practice. *Nature*. 2013 Jun 27;498(7455):S8-9.
16. Roche-Lestienne C, Soenen-Cornu V, Grardel-Duflos N, Lai JL, Philippe N, Facon T, et al. Several types of mutations of the Abl gene can be found in chronic myeloid leukemia patients resistant to ST1571, and they can pre-exist to the onset of treatment. *Blood*. 2002 Aug 1;100(3):1014-8.
17. Administration USFaD. FDA Drug Safety Communication: FDA asks manufacturer of the leukemia drug Iclusig (ponatinib) to suspend marketing and sales. 2013.
18. Smith CC, Wang Q, Chin CS, Salerno S, Damon LE, Levis MJ, et al. Validation of ITD mutations in FLT3 as a therapeutic target in human acute myeloid leukaemia. *Nature*. 2012 May 10;485(7397):260-3.
19. Wright J. Epigenetics: reversible tags. *Nature*. 2013 Jun 27;498(7455):S10-1.
20. Okada Y, Feng Q, Lin Y, Jiang Q, Li Y, Coffield VM, et al. hDOT1L links histone methylation to leukemogenesis. *Cell*. 2005 Apr 22;121(2):167-78.
21. Bernt KM, Zhu N, Sinha AU, Vempati S, Faber J, Krivtsov AV, et al. MLL-rearranged leukemia is dependent on aberrant H3K79 methylation by DOT1L. *Cancer Cell*. 2011 Jul 12;20(1):66-78.
22. Maus MV, Grupp SA, Porter DL, June CH. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. *Blood*. 2014 Apr 24;123(17):2625-35.
23. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2013 Apr 18;368(16):1509-18.
24. Lankester AC, Locatelli F, Bader P, Rettinger E, Egeler M, Katewa S, et al. Will Post-Transplantation Cell Therapies for Pediatric Patients Become Standard of Care? *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Jul 23.
25. Di Stasi A, Tey SK, Dotti G, Fujita Y, Kennedy-Nasser A, Martinez C, et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N Engl J Med*. 2011 Nov 3;365(18):1673-83.
26. Levine BL, June CH. Perspective: assembly line immunotherapy. *Nature*. 2013 Jun 27;498(7455):S17.
27. Baker M. Companies ponder how truly 'personal' medicines can get. *Nat Med*. 2011 May;17(5):519.
28. Torikai H, Reik A, Soldner F, Warren EH, Yuen C, Zhou Y, et al. Toward eliminating HLA class I expression to generate universal cells from allogeneic donors. *Blood*. 2013 Aug 22;122(8):1341-9.
29. Administration UFaD. Guidance for industry: considerations for the design of early-phase clinical trials of cellular and gene therapy products. July 1 2013.
30. De Oliveira SN, Ryan C, Giannoni F, Hardee CL, Tremcinska I, Katebian B, et al. Modification of hematopoietic stem/progenitor cells with CD19-specific chimeric antigen receptors as a novel approach for cancer immunotherapy. *Hum Gene Ther*. 2013 Oct;24(10):824-39.

PREBRALI SMO ZA VAS SHORT PHARMA NEWS

UREDILA:

prof.dr. Borut Štrukelj,
Lidija Gerzej, mag. farm.

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo

10 % njihovih krvnih celic. Pri kadilcih so ta pojav opazili od dva do celo štirikrat pogosteje kot pri nekadilcih. V raziskavi so upoštevali tudi druge možne dejavnike tveganja za izgubo kromosoma Y, kot so zvišan krvni tlak, prekomerna telesna masa, sladkorna bolezen in telesna nedejavnost. Vendar se je vpliv na kromosome Y pokazal le pri kajenju in višji starosti. Kot pomemben dejavnik se je pokazalo tudi število pokajenih cigaret. Pozitivno pri tem je, da so bivši kadilci imeli podobne rezultate kot nekadilci, kar naj bo motivacija za tiste, ki te škodljive razvade še niso uspeli opustiti. Kako pa je pri pripadnicah nežnejšega spola? V njihovih celicah se prav tako s starostjo izgublajo kromosomi, seveda X, vendar učinki na zdravje še niso poznani. So pa zato znani drugi škodljivi učinki kajenja, zato velja razmisliti o opustitvi kajenja tudi pri kadilkah.

Vir:

Novice MedlinePlus, http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/news/fullstory_149799.html, 5. december 2014

GOSPODJE, KAJENJE VAS LAHKO STANE MOŠKOSTI ...

... no, v delu, ki ga prinaša pripadnikom moškega spola njihov kromosom Y. Raziskava objavljena v ugledni reviji Science je pokazala, da kadilci z leti hitreje izgublajo kromosome Y. Dolgo je veljalo, da je izgubljanje kromosomov Y pri moških običajen proces staranja, vendar novejši izsledki kažejo, da izgubljanje kromosomov Y še zdaleč ni tako nedolžno. Znanstveniki so odkrili, da povečano zgubljanje kromosomov Y v celicah vodi v krajšo življenjsko dobo in povečano tveganje za smrt zaradi raka. Ta ugotovitev morda pomeni tudi en odgovor na vprašanje, zakaj je rak pri moških kadilcih v splošnem pogostejši kot pri ženskah kadilkah. Kromosomu Y so dolgo pripisovali predvsem vlogo pri določanju spola. Novejša odkritja pa so pokazala, da kromosom Y vsebuje veliko število genov, katerih vloga v večini sicer še ni razjasnjena, nekateri pa zavirajo razvoj rakov. Pomanjkanje kromosomov Y tako pomeni motnjo v ravnotežju imunskega sistema nadzora razvoja raka v celicah, kjer kromosomov Y ni več.

V raziskavi so analizirali vzorce krvi več kot 6000 starejših moških, ki so sodelovali v treh različnih raziskavah. Pri okoli 15% moških, starejših od 70 let, so opazili bistveno zmanjšanje kromosomov Y v celicah, kar pomeni učinek vsaj na

EMA PRIPOROČILA REGISTRACIJO PRVEGA ZDRAVILA ZA ZDRAVLJENJE RAKA JAJČNIKOV PRI BOLNICAH Z MUTACIJO V GENU BRCA

Rak jajčnikov prizadene približno 150.000 žensk v Evropski uniji in predstavlja peti najpogostejši vzrok smrti zaradi raka pri ženskah. Zaradi odsotnosti simptomov, pomanjkanja diagnostičnih metod oziroma poznega diagnosticiranja v zgodnji fazi, odkrijejo rak jajčnikov relativno pozno, ko so rakave celice že v obširni proliferaciji. Zato je seveda prognoza po odkritju relativno slaba. Kljub temu, da je v EU že kar nekaj učinkovin, registriranih za zdravljenje raka jajčnikov, pa še vedno ni dovolj zdravil, ki bi izkazovala različne mehanizme delovanja. Veliko bolnic z rakom jajčnikov je sicer pri prvem zdravljenju odzivnih na kemoterapevtike, a se žal razrast raka mnogokrat ponovi, ko je odzivnost na kemoterapijo mnogokrat bistveno zmanjšana.

Odbor za zdravila za humano uporabo pri EMA (CHMP) je izdal za olaparib priporočilo za pridobitev dovoljenja za promet pri zdravljenju ponovitvenega raka na jajčnikih ali

za zdravljenje primarnega peritonelnega raka, ki je nastal kot posledica genske mutacije na enem od obeh genih BRCA. V obeh primerih naj bi bile bolnice z rakom jajčnikov tudi odzivne na zdravljenje s kemoterapevtiki, ki vsebujejo platino.

Olaparib je prvi predstavnik novega razreda tarčnih kemoterapevtikov, ki delujejo kot zaviralci proteinov PARP. Družina PARP proteinov pomaga popravljati poškodovano deoksiribonukleinsko kislino (DNK), kar poveča verjetnost preživetja in kasnejše proliferacije rakavih celic. V kolikor pa pride do blokade, rakava celica ne uspe popraviti mutacij, ki so bile povzročene s kemoterapijo ali žarčenjem in celica propade. Pozitivno mnenje Odbora za zdravila za humano uporabo temelji na rezultatih druge faze kliničnega testiranja pri bolnicah z rakom ovarijev in ugotovljeno mutacijo na enem od genov BRCA, ki so prejele dve ali več ciklov zdravljenja s platinskimi kemoterapevtiki. Zdravilu z učinkovino olaparib (Lynparza) so podelili status zdravila sirote, kar bo pospešilo in olajšalo nadaljnji razvoj in umestitev zdravila na liste po članicah EU, kjer bo posamezna članica odločala o ceni in sistemu predpisovanja.

Vir:

EMA Press release, 24. oktober, 2014

PRIPOROČILO EMA: JUTRANJA TABLETKA ELLAONE ZA NUJNO ZAŠČITO PRED NEZAŽELENO NOSEČNOSTJO NAJ BO ZDRAVILO BREZ RECEPTA

Odbor za zdravila za humano uporabo (CHMP) je na osnovi nekajletnih študij o učinkovitosti in varnosti predlagal spremembo v načinu predpisovanja za učinkovino ulipristalacetat, ki jo vsebuje zdravilo ellaOne, iz režima izdajanja zdravila na recept v režim izdajanja kot zdravilo brez recepta. Na ta način naj bi enotno v vsej Evropski uniji omogočili lažji dostop do zdravila v primeru nujne prekinitve nosečnosti po nezaščitenem spolnem odnosu oziroma v primeru, če je bila zaščita nepopolna. Ulipristalacetat deluje kot preprečevalec ali podaljševalec nastopa ovulacije in je zelo učinkovit v prvih 24 urah, učinke pa izkazuje celo do

120 ur po spolnem odnosu. Ker pa je najbolj učinkovit v prvem dnevu, je nujen hiter dostop do zdravila, zato odbor CHMP priporoča preklon na režim izdajanja zdravila brez recepta. Na osnovi študij o varnosti je odbor ugotovil, da je varnost tablet z ulipristalacetatom primerljiva z najpogosteje uporabljenimi zdravili za nujno prekinitve nosečnosti z učinkovino levonorgestrel, ki je ravno tako na voljo v večini članic EU kot zdravilo brez recepta.

Vir:

EMA Press Release, 20. november, 2014

PREVIDNO PRI UPORABI IVABRADINA

Učinkovina ivabradin se uporablja za zdravljenje kronične stabilne angine pectoris in kroničnega srčnega popuščanja. Pri pregledu končnih rezultatov nazadnje objavljene študije Signify so ugotovili, da je bilo v podskupini bolnikov s simptomatsko angino pectoris, ki je prejela ivabradin, sicer majhno, vendar statistično značilno povečano skupno tveganje za srčno-žilno smrt ali miokardni infarkt brez smrtnega izida v primerjavi s skupino, ki je prejela placebo (letna pojavnost 3,4% v primerjavi z 2,9%). Podatki kažejo tudi povečano tveganje za bradikardijo (17,9% v primerjavi z 2,1%). Pregled še drugih razpoložljivih podatkov o varnosti in učinkovitosti ivabradina kaže tudi na povečano tveganje za atrijsko fibrilacijo (4,9% v primerjavi s 4,1% v kontrolni skupini). V študiji Signify je bila pogostnost atrijske fibrilacije v skupini, zdravljeni z ivabradinom 5,3%, v skupini, ki je prejela placebo, pa 3,8%. Odbor za zdravila za uporabo v humani medicini (CHMP) pri Evropski agenciji za zdravila je potrdil, da razmerje med koristjo in tveganjem zdravila pri odobrenih indikacijah sicer ostaja pozitivno, je pa sprejel priporočila za zmanjšanje zgoraj omenjenih tveganj: Zdravilo se uvede za zdravljenje angine pectoris le pri bolnikih, ki imajo srčno frekvenco v mirovanju najmanj 70 utripov na minuto. Začetni odmerek ne sme presegati 5 mg dvakrat na dan, največji vzdrževalni odmerek pa ne sme presegati 7,5 mg dvakrat na dan. Ob tem je potrebno redno merjenje srčne frekvence, EKG ali 24-urno ambulantno spremljanje. Zdravljenje je treba prekiniti, če v 3 mesecih ni izboljšanja simptomov. Zdravila naj se ne uporablja skupaj z verapamilom ali diltiazemom. Bolnike je treba obvestiti o znakih in simptomih atrijske fibrilacije, kot so hitro in neredno bitje srca, stiskanje v prsnem košu, pomanjka-



nje sape, omotica in jim svetovati, naj se ob pojavu le-teh posvetujejo z zdravnikom. Če se med zdravljenjem atrijska fibrilacija razvije, je treba ponovno oceniti koristi in tveganja zdravljenja z ivabradinom.

Vir:

1. *EMA Press Release, november 2014*
2. *Fox K. Ford I, Steg PG, et al. Ivabradine in stable coronary artery disease without clinical heart failure. N Engl J Med 2014; 371: 1091-9*

EMA SPODBUJA IZDELOVALCE ZA POSPEŠITEV RAZVOJA CEPIVA PROTI VIRUSU EBOLA

Evropska komisija za zdravila EMA je za izdelovalce cepiv uvedla pospešeni sistem znanstvenega nasveta. Znanstveni posvet je formalna oblika pristopa v fazi priglasitve zdravila za pridobitev dovoljenja za promet, ki sicer ni obvezen, v mnogočem pa razjasni in pospeši zahteve z vidika varnosti, učinkovitosti in kakovosti s strani regulatornih oblasti. Tako je EMA prvič doslej izvedla pospešeni znanstveni nasvet za farmacevtsko družbo GSK, z namenom spodbuditi in pospešiti razvoj učinkovitega cepiva proti virusu Ebola. Tako so strokovnjaki EMA podali nasvet glede kliničnega preizkušanja, proizvodnje in sledenja varnosti pri razvoju cepiva. Novost predstavlja predvsem kontinuirana spremljava razvoja cepiva s strani strokovnjakov EMA na osnovi vsakodnevnih informacij, ki jih dobivajo do proizvajalca cepiva. Pričakujejo, da bi na ta način bistveno skrajšali razvoj in pridobitev dovoljenja za promet s cepivom.

Vir:

EMA Press Release, 29.10.2014

NOVO BIFUNKCIONALNO BIOLOŠKO ZDRAVILO ZA ZDRAVLJENJE AKUTNE LIMFOBLASTNE LEVKEMIJE

Bolniki z eno od redkejših oblik B-celične akutne limfoblastne levkemije (ALL) bodo lahko zdravljeni z novo rekom-

binantno biološko molekulo, imenovano blinatumomab. Gre za prvo biološko molekulo, ki povezuje limfocite T in rakave limfocite B. Osnova molekularnega delovanja tega proteina je v tem, da ima izražen tako del CD3 receptorja, na katerega se vežejo CD3 pozitivni limfociti T, kot tudi ligand za vezavo CD19 antigena na površini rakavih limfocitov B. Na ta način deluje blinatumomab kot povezovalac med citotoksičnimi limfociti T in rakavimi limfociti B, ki se uničijo zaradi delovanja celic T ubijalk. Res pa je, da je antigen CD19 prisoten tudi na površini nerakavih limfoblastov B, ki pa so zaradi neravnovesja v hiperbiosintezi v manjšem številu. Imunski sistem bolnika torej sam uniči prekomerno namnožene CD19 pozitivne limfoblaste B, ki predstavljajo predhodnike limfocitov B. Ameriška agencija za zdravila je pozitivno ocenila postopek za izdajo dovoljenja za promet za blinatumomab (Blincyto) za zdravljenje akutne limfoblastne levkemije, zaradi katere vsako leto samo v ZDA umre 1440 bolnikov. Zdravilo je razvilo podjetje Amgen, ki ga uvrščajo med eno od najbolj inovativnih biotehnoško farmacevtskih družb na svetu. Tudi za blinatumomab velja, da ga je FDA prioriteto uvrstila v obravnavo in mu dodelila status zdravila sirote z namenom čimprejšnjega prihoda zdravila na tržišče in do bolnikov, predvidoma maja 2015.

Vir:

FDA Immediate Release, 3. december 2014



IZ DRUŠTVENEGA ŽIVLJENJA ACTIVITIES OF THE SOCIETY

60. OBLETNICA GORENJSKE PODRUŽNICE SFD

Valerija Bezjak

V četrtek 2. oktobra 2014 sta bili dvorani v hotelu Astoria skoraj premajhni za vse, ki so se želeli udeležiti svečanosti ob 60. obletnici Gorenjske podružnice SFD.

In tako smo se v tem večeru podali predvsem v spomine. Take bolj sveže, in tudi tiste bolj oddaljene.

Po kratkih pozdravnih govorih predsednice GP SFD Valerije Bezjak in prof. Boruta Božiča, ki sta nas spomnila, zakaj se farmacevti moramo povezovati, sodelovati ter izmenjavati izkušnje iz vseh delovnih okolij, nas je navzoče v dvorani obdal topel občutek, da sta delovanje in aktivna prisotnost vsakega člana ne le pomembna, ampak tudi cenjena. In da tudi koraki, ki se posamezniku zdijo majhni, pomenijo v naši skupnosti veliko.

Naštevanje zgodovinskih podatkov je lahko izredno suhoparno, a tokratni pristop v obliki kratkega filma je bil svež. S ključnimi zgodovinskimi podatki in utrinki iz življenja podružnice je tako učinkovito združil včeraj in danes, da smo z zanimanjem pričakovali nadaljevanje večera. Marsikdo izmed mlajših je tako prvič izvedel, da Gorenjska podružnica ohranja svoj tradicionalni pohod na Roblekov dom pod Begunjščico, ne le zaradi slikovite in dostopne poti, ampak tudi, ker je imenovana po farmacevtu Hugu Robleku.

Multivizija nas je tudi opomnila, da moramo biti ponosni na svojo kulturno dediščino, ki jo je oče ustanovitelja GP SFD Zdenka Lavička magister Bohuslav Lavička ohranil v svoji farmacevtsko- medicinski zbirki, ki je bila razglašena za kulturni spomenik državnega pomena (IME).

Spomini so se z rdečo nitjo povezali z zgodovino v intervjuju Jasne Majdič z Bredo Kosirnik, avtorico knjige Zgodovina in razvoj lekarništva na Slovenskem. Ste vedeli, da so prvi recepti nastali že v Mezopotamiji? Da so prve lekarne nastale v arabskem svetu že v 8. in 9. stoletju? No, v Evropi precej kasneje.



Breda Kosirnik



Udeleženci proslave so z zanimanjem spremljali program





Jasna Majdič in Valerija Bezjak

V potovanju h koreninam svojega poklica smo tudi zvedeli, kakšen je bil razvoj naše stroke od Aesculapa, Hygeie do Paracelzija. In razmišljali o trnovi poti do odprtja prvih lekarn - na Gorenjskem v drugi polovici 18. stoletja.

Vračanje v preteklost so prijetno povezovala umetniške točke s petjem in plesom. Ponosni na to, kar smo skupaj dosegli, smo morali narediti le še to, kar včasih (pre)hitro pozabimo. Sledila je torej še iskrena zahvala zadnjima predsednicama GP SFD, Jasni Majdič in Tini Kosmač Bukovec, za njun del sebe, ki sta ga vložili v vodenje podružnice in to, da je strokovni razvoj še bolj stremel k vzponu.

Ob prijetnem in sproščenem druženju po zaključku programa, katerega so se udeležili tudi člani drugih podružnic, smo lahko le še potrdili, kako pomembno si je v vsakdanu, ki prehitro beži mimo nas, vzeti čas za osebno sodelovanje in izmenjavo izkušenj.

In čas, ki beži,...., smo za hip uspeli zadržati.

7. simpozij homeopatske sekcije SFD: HOMEOPATIJA V AVSTRIJSKIH LEKARNAH

V imenu organizacijskega odbora simpozija,

Tanja Šegula, mag. farm.

**Članica izvršnega odbora SFD
za Homeopatsko sekcijo**

Homeopatska sekcija pri Slovenskem farmacevtskem društvu je v soboto, 18. oktobra organizirala že tradicionalni 7. simpozij z naslovom Homeopatija v avstrijskih lekarnah. Simpozij je potekal v prostorih Kemofarmacije v Ljubljani. Izbrana tema Homeopatija v avstrijskih lekarnah je privabila 55 slušateljev magistrov farmacije iz cele Slovenije, z že obstoječim znanjem iz homeopatije (od skupno 400). To dokazuje, da lekarniški farmacevti kritično sprejemamo razvoj medicinskih znanosti, sledimo evropskim in svetovnim trendom v združevanju klasične in komplementarne medicine ter se neprestano strokovno izobražujemo.

Namen srečanja je bil poglobitev homeopatskega znanja in seznanitev z novostmi. V dopoldanskem delu je nastopila predavateljica Ilse Muchitsch, mag.farm., predstavnica Lekarniške zbornice Avstrije, skupine za homeopatske raziskave iz Dunaja. Predstavila je izdelavo homeopatskih zdravil v lekarni, svetovanje izbire razredčitve in doziranja, **homeopatsko lekarno za prvo pomoč (20 homeopatskih zdravil)**. Dopoldanski del simpozija je predavateljica strnila s predstavitevjo raziskav v homeopatiji ter homeopatskim pristopom v onkologiji. Povezovala ga je dr. Maruša Hribar, mag.farm..

V popoldanskem delu je moderatorica Tanja Šegula, mag.farm., povabila k **predstavitvi sodobnega homeopatskega računalniškega programa**. Soustanovitelj Michael Stassinopoulos iz Aten je predstavil **VithoulkasCompass homeopatski software**. Predstavljena je bila osnovna filozofija programa s posameznimi poglavji uporabe. V delavnici je bil obravnavan primer uporabe programa pri kronični obravnavi pacienta. Predstavljena je bila tudi možnost uporabe v lekarni za akutne primere. Moderatorica je podala tudi primer uporabe sodobnega programa v praksi.

Naše znanje raste samo, če sprašujemo in delimo znanje z drugimi. Bistvo v zdravljenju bolnikov je samo zdravje in dobrobit bolnika. Očitno pa obstaja več različnih poti, kako to doseči. Ena izmed njih je tudi homeopatija. To veščino, kakor vse ostale, je potrebno stalno izpopolnjevati, za kar je bil simpozij čudovita priložnost.

Iskrena hvala vsem udeležencem simpozija za podporo integracije homeopatije v slovenski zdravstveni sistem, katerega del so tudi lekarne.

Posebna zahvala gre glavnemu sponzorju strokovnega dogodka Kemofarmaciji, ki ima vedno posluš za strokovno izobraževanje lekarniških farmacevtov.

SIMPOZIJ »DELO FARMACEVTA SVETOVALCA – FARMAKOTERAPIJSKI PREGLED«

Kaja Deberšek

V petek, 21. in v soboto, 22. novembra 2014 je v Moravskih toplicah potekal simpozij sekcije kliničnih farmacevtov z naslovom »Delo farmacevta svetovalca – Farmakoterapijski pregled«. Udeležili so se ga farmacevti, predvsem specialisti in specializanti iz različnih delov Slovenije.

Petek dopoldne je bil namenjen predavanjem, uvodnemu govoru je sledilo predavanje na temo pravne zaščite in odgovornosti farmacevta ter pregled dela na LZS glede kognitivnih storitev. Sledila je predstavitev rezultatov ankete zdravnikov, ki so se udeleževali sestankov Skupin kakovostnega predpisovanja zdravil (SKPZ). Odgovori anketirancev kažejo, da razvojna naloga SKPZ in farmacevt-svetovalca dosega svoje cilje. Vse teme strokovnega programa delavnic tekom razvojne naloge v Pomurju so bile ocenjene s povprečnimi ocenami 4.2 ali več po 5-stopenjski lestvici. V svetovalno ambulanto so zdravniki najpogosteje poslali bolnikovo kartoteko (69 %), za napotitev pacientov pa so se odločili v 41 %. Šlo je predvsem za bolnike, ki so prejeli 10 ali več različnih učinkovin hkrati ter bolnike, za katere so menili, da imajo težave, povezane z zdravili. Zadovoljstvo s farmakoterapijskimi pregledi je bilo ocenjeno zelo dobro (povprečna ocena 4.9), v

njih pa so zdravniki dobili odgovore na večino svojih vprašanj. Mnenja so, da so bolniki zadovoljni z obiskom farmacevta svetovalca, tudi njihovo stanje po spremembi farmakoterapije se je v povprečju nekoliko izboljšalo. Anketiranci si večinoma želijo nadaljevanja sestankov SKPZ, podobnega mnenja so tudi glede izvajanja ambulantne farmaceutva svetovalca.

Na predavanju o uvedbi terapevtskih skupin zdravil (TSZ) so bile predstavljene že uvedene TSZ in s tem povezani prihranki, ki v povprečju znašajo 33% vrednosti posamezne TSZ in za obvezno zdravstveno zavarovanje v letu 2014 presegajo 10 milijonov evrov.

Srečanje je bilo namenjeno predvsem strokovni diskusiji glede dela kliničnega farmacevta v ambulanti, pred praktičnim delom pa so bili predstavljeni napotki za pisanje farmakoterapijskega pregleda. Farmakoterapijski pregledi se izvajajo v ambulantah farmacevtov svetovalcev v Zdravstvenih domovih po Sloveniji in v nekaterih bolnišnicah, njihov glavni namen pa je svetovanje zdravnikom glede optimizacije zdravljenja z zdravili, da je farmakoterapija pri posameznem pacientu varna, kakovostna in učinkovita. Udeleženci so se seznanili z algoritmom dela in pomembnimi navodili za pisanje farmakoterapijskih izvidov, prikazane so bile tudi najpogostejše napake pri pisanju in posamezni primeri. Poleg strokovnosti pri pisanju je zelo pomembna tudi komunikacija z zdravniki in način podajanja informacij, da je mnenje iz njihove strani lažje sprejeto. Večji del simpozija, petek popoldne in celotni sobotni program, je bil namenjen delavnicam in praktičnemu pristopu pri pisanju farmakoterapijskih pregledov. Udeleženci so bili razporejeni v dve stopnji, ki sta se razlikovali po težavnosti predstavljenih primerov, nato pa so v skupinah po trije ali štirje pripravili farmakoterapijske preglede primerov iz prakse. Delavnice so vodili farmacevti svetovalci, ki delajo v ambulantah.

Udeleženci so se strinjali, da takšna skupna izobraževanja farmacevtov svetovalcev zelo pripomorejo k optimalnemu pisanju farmakoterapijskih pregledov in srečanje, predvsem praktični del v obliki delavnic, zelo dobro ocenili.





Med predavanji



Delo je potekalo v skupinah



Spoštovani bralci, avtorji in recenzenti!

V imenu uredništva Farmacevtskega vestnika se ob koncu leta 2014 vsem avtorjem in recenzentom zahvaljujem za sodelovanje in pomoč pri oblikovanju revije, bralcem pa za pozornost, ki jo namenjate osrednjemu glasilu slovenske farmacije. Ob tej priložnosti vabimo vse skupaj, da se opogumite in tudi sami pošljete prispevke in s tem prispevate zanimive vsebine v naš/vaš Farmacevtski vestnik. Prispevki naj ne bodo za nas le črke in slike na papirju, oziroma nabirek točk za katere se potegujemo, ampak naj predstavljajo obogatitev/gojitev našega strokovnega jezika, kot tudi orodje za prenos znanja. Bodite aktivni! Upajte si! Veseli bomo vaših razmišljanj ter vsebin. Na koncu pa še želja, ki velja ob času, ko se leto spet obrne.

V prihajajočem letu vam želimo veliko zdravja, osebnih uspehov in novih izzivov.
glavna urednica Farmacevtskega vestnika dr. Petra Slanc Može

Recenzenti:

dr. Žiga Jakopin • dr. Petra Slanc Može • doc. dr. Tomaž Bratkovič • prof. dr. Julijana Kristl
prof. dr. Franc Vrečer • prof. dr. Janez Kerč • prof. dr. Albin Kristl • doc. dr. Vovk Tomaž
Mihaela Tršinar, mag. farm., spec. • doc. dr. Igor Locatelli • asist. Andrej Janžič, mag. farm.
doc. dr. Nina Kočever Glavač • prof. dr. Samo Zver • prof. dr. Aleš Mrhar • doc. dr. Matjaž Ravnikar
doc. dr. Simon Žakelj • prof. dr. Aleš Obreza • doc.dr. Mojca Lunder • prof. dr. Borut Štrukelj

RAZPIS ZA PODELITEV DRUŠTVENIH PRIZNANJ V LETU 2015

Odbor za podeljevanje društvenih priznanj objavlja razpis za podelitev društvenih priznanj v letu 2015. Podružnice in sekcije prijavijo kandidate skladno z določili Pravilnika o podeljevanju društvenih priznanj najkasneje do **31. januarja 2015.**

Za utemeljitev uspešnosti kandidata mora predlagatelj navesti pozitivne spremembe v delovnem okolju, ki so posledica kandidatovih aktivnosti. Iz predloga mora biti razvidno, kako je kandidat v smislu kvalitete in kvantitete presejal svoje obveznosti, ki izhajajo iz opisa del in nalog delovnega mesta, ki ga zaseda. Predlogi morajo biti pripravljene na obrazcih, ki so sestavni del Pravilnika. Predlog za podelitev društvenih priznanj mora predlagatelj poslati skupaj s prilogami v enem izvodu v elektronski obliki na naslov: **info@sfd.si**

in v enem izvodu v tiskani obliki tajništvo Slovenskega farmacevtskega društva **najkasneje do 31. januarja 2015.**

Elektronsko oddane prijave, posredovane po elektronski pošti, morajo biti popolnoma enake kot pisne, poslane z navadno pošto.



PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI

Peter Pregelj: Uvajanje in ocenjevanje učinkovitosti antidepressivov	3
Virginija Novak Grubič: Uporaba antipsihotikov izven indikacij	7
Matej Štuhec: Identifikacija in ozadje neželenih učinkov zdravil pri psihiatričnih bolnikih	11
Miran Brvar: Klinično pomembne razlike, prepoznavna in ukrepi pri predoziranju benzodiazepinov	18
Igor Locatelli: Pomen farmakokinetike pri napovedovanju kliničnih učinkov antidepressivov in antipsihotikov	24
Danila Hriberšek: Izbira psihofarmaka pri nosečnicah in doječih materah	31
Jurij Fürst, Vita Samaluk: Poraba psihotropnih zdravil v Sloveniji	39
Vesna Švab: Sodelovanje pri zdravljenju: celostna obravnava psihiatričnega pacienta	42
Sašo Kovačič, Alenka Premuš Marušič: Klinični primer iz prakse kliničnega farmacevta – svetovalca	45
Maja Tršinar: Izbira zdravila (svetovanje kliničnega farmacevta)	49
Maja Tršinar: Kdaj in kako menjavamo in ukinjamo psihofarmake	52
Tijana Orešič Barač: Najpogostejše mikoze kože in nohtov pri mladostnikih in odraslih - epidemiologija in klinična slika	87
Marjetka Pal: Možnosti zdravljenja najpogostejših dermatomikoz pri odraslih in mladostnikih	93
Mateja Lisjak: Najpogostejše kožne težave majhnih otrok	101
Boris Kralj: Sistemsko zdravljenje aken pri mladostniku in mladih odraslih	113
Lucija Peterlin Mašič: Učinkovine, ki vplivajo na trombozo	118
Štalc Monika, Alenka Mavri: Zdravljenje z novimi peroralnimi antikoagulacijskimi zdravili	129

Miha Čerček: Antiagregacijska zdravila: indikacije, smernice, in klinična praksa	137
Samo Zver: Pridružene motnje primarne in sekundarne hemostaze in njihov vpliv na varnost uporabe antikoagulacijskih zdravil	141
Alenka Helena Jagodic Vilfan: Interakcije novih peroralnih antikoagulacijskih zdravil s hrano in z drugimi zdravili	147
Iztok Grabnar: Farmakokinetika antikoagulacijskih zdravil pri jetrni in ledvični disfunkciji	154
Maja Petre: Klinično pomembne razlike med antikoagulacijskimi zdravili	164
Mojca Kolnik, Miran Brvar: Prepoznavanje neželenih učinkov zdravljenja z antikoagulacijskimi zdravili in ukrepanje	171
Zlatka Rakovec – Felser: Kronični bolnik in njegovo sodelovanje med zdravljenjem	177
Katarina Mlekuš Kozamernik, Tina Krokter Kogoj, Mojca Jensterle Sever, Andrej Janež: Metabolični sindrom – od patofiziologije do klinične prepoznave	207
Matej Rakuša, Mojca Jensterle Sever, Andrej Janež: Metabolični sindrom – zdravljenje	221
Damijan Knez, Marko Anderluh: Prepustnost krvno-možganske pregrade pri razvoju učinkovin z delovanjem v osrednjem živčevju	227
Katja Kristan: Palatibilne zdravilne oblike za zdravljenje psov in mačk	234
Alenka Ilašič: Vloga magistra farmacije v zunanji lekarni pri ledvični bolezni	267
Karmen Bončina: Svetovanje farmacevta v zunanji lekarni pri zdravljenju bolnikov z urgentno urinsko inkontinenco	273
Barbara Koder: Pogled lekarniškega farmacevta na zdravljenje vnetij sečil ter pojav sečnih kamnov	282
Klemen Jagodič: Kirurško zdravljenje prostatične obstrukcije pri bolnikih s simptomi spodnjih sečil	333
Janez Ilaš, Aleš Obreza: Zdravila za zdravljenje benigne hiperplazije prostate	337



Nina Kočevar Glavač, Damjan Janeš: Benigna hiperplazija prostate – si lahko pomagamo z zdravilnimi rastlinami?	344
Samo Kreft: Varni in učinkoviti: nova spoznanja o izvlečkih šentjanževke (<i>Hypericum perforatum</i>)	349
Peter Panjan, Borut Štrukelj: Razvoj genskega zdravljenja pri glioblastomu	354
Tanja Prunk, Mojca Lunder, Polonca Ferik: Vloga prenašalca ABCB5 v iniciaciji, invaziji in zasevanju malignega melanoma in možnosti razvoja novih tarčnih učinkovin	361
Nataša Karas Kuželički: Novi pristopi k zdravljenju akutne limfoblastne levkemije pri otrocih	368

ORIGINALNI ZNANSTVENI ČLANKI

Anže Vasle, Nina Landekar, Aleš Mrhar: Analiza uporabnosti podatkovne baze Lexicomp za prepoznavanje potencialnih interakcij med zdravili	240
Sabina Šoštaric, Pieter Cornu, Alain G Dupont, Stephane Steurbaut, Aleš Mrhar: Analiza avtomatskega sistema za spremljanje interakcij med zdravili	294
Simon Žakelj, Iztok Grabnar, Aleš Mrhar: Book of Abstracts, 10th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, September 18-20, 2014., Special Issue. Farm Vestn: 65:1-253.	

KRATKI ZNANSTVENI PRISPEVKI

Anže Vasle, Nina Landekar, Aleš Mrhar: Analiza uporabnosti podatkovne baze Lexicomp online TM za prepoznavanje potencialnih interakcij med zdravili	59
Milan Balaban: Zdravljenje z zdravili pri starostnikih	60
M. Petre, B. Kolarič, P. Drogenik, M. Cviki: Izidi intervencij farmacevtov pri predpisovanju rezervnih antibiotikov upoštevajoč ledvično funkcijo bolnikov	60
Petra Tavčar: Zdravila v zadnjih šestih dnevih življenja (retrospektivna študija)	61

Nina Pisk, Tina Morgan, Joži Begelj: Poznavanje zdravil za zdravljenje astme in KOPB pri bolnikih v zunanji lekarni	62
Lea Knez, Stanislav Šuškovič, Anja Primožič, Raisa Laaksonen, Maja Jošt, Mitja Košnik, Aleš Mrhar: Neželeni dogodki zdravljenja z zdravili – randomizirana klinična študija vpliva storitve usklajevanja zdravljenja z zdravili ob sprejemu v bolnico	63
Helena Pavšar, Stanislav Pišek: Aktivno izvajanje in beleženje farmacevtskih intervencij ob izdaji zdravil na recept	64
Lea Knez, Stanislav Šuškovič, Renata Režonja, Raisa Laaksonen, Aleš Mrhar: Usklajevanje zdravljenja z zdravili – rezultati presečne opazovalne študije	65
P. Drogenik, M. Cviki, M. Petre, B. Kolarič: Uvedba TDM vankomicina kot farmacevtske storitve in njen vpliv na doseganje in vzdrževanje ustreznih plazemskih koncentracij	65
A. Sočan, M. Sever, B. Vrtovec, L. Ležaič: Vrednotenje CD34+ hematopoietskih pluripotentnih celic označenih s 99mTc-HMPAO	66
Lea Knez, Petra Jančar, Dražena Debeljak, Pika Meško Brguljan, Mitja Košnik, Aleš Mrhar: Analiza meritev serumskih koncentracij teofilina v bolnišnici Golnik	67
Lea Knez, Raisa Laaksonen, Catherine Duggan, Rajinder Nijjar: Ocena kliničnih intervencij farmacevtov pri zdravljenju onkoloških bolnikov	67
Lea Knez, Maja Jošt, Janez Toni, Nadja Triler, Tanja Čufer: Uvajanje novih farmacevtskih storitev ob prehodu na centralizirano pripravo protitumornih zdravil	68
Matej Dobravc Verbič, Andreja Čufar: Ustanovitev oddelka za klinično farmacijo v lekarni univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana	69
Marko Krošelj, Aljaž Sočan, Thorsten Dreger, Petra Kolenc Peitl: Avtomatizirana priprava radiooznačenih peptidov v zaščitnem sinteznem modulu	70
Nanča Čebren Lipovec, Lea Knez, Helena Farinha, Aleš Mrhar: Predpisovanje zdravil bolnikom z nazogastričnimi sondami - Kakšna so tveganja?	71



Nina Pisk, Barbara Koder, Polona Gabrovšek: Projekt farmacevt zdravniku po 2 letih delovanja	72
Petra Tavčar: Problematika visokih odmerkov metotreksata pri onkoloških bolnikih	73
Samo Rožman, Monika Sonc, Barbara Jezeršek Novaković: Pozna nevtropenija povezana z rituksimabom pri bolnikih z difuznim velikoceličnim limfomom B (DVCLB)	73
Tanja Brvar: Vloga farmacevta pri obravnavi starostnikov na terapiji z benzodiazepinskimi anksiolitiki in hipnotiki	74
Tanja Brvar: Analiza porabe benzodiazepinskih anksiolitikov in hipnotikov v Sloveniji	75
T. Laptoš, P. Volk Markovič, A. Čufar: Stroškovni vidik priprave biološke terapije: primerjava sestrske in farmacevtske priprave	77
N. Rugelj, K. Cvan Trobec, M. Pislar, P. Mesko Brguljan, M. Kosnik, A. Mrhar: Vrednotenje storitve terapevtskega spremljanja koncentracije teofilina	77
Katja Trobec, Lea Knez, Pika Meško, Tanja Čufer, Mitja Lainščak: Ocena ledvične funkcije pri bolnikih s pljučnim rakom	78
Lidija Klakočar, Jure Bračun, Aleš Mrhar: Etiologija okužb in spremljanje skladnosti uporabe protimikrobnih zdravil s smernicami v splošni bolnišnici Celje	79
Lea Knez, Raisa Laaksonen, Catherine Duggan: Ocena kliničnih intervencij farmaceutov v okviru priprave kemoterapije	80
J. Erjavec, L. Knez, S. Škr gat-Kristan, A. Mrhar, M. Košnik: Vrednotenje uporabe bronhodilatatorjev pri bolnišničnem zdravljenju bolnikov z akutnim poslabšanjem kronične obstruktivne pljučne bolezni	80
Renata Režonja, Lea Knez, Stanislav Šuškovič, Mitja Košnik, Aleš Mrhar: Popolnost informacij o zdravljenju z zdravili pred sprejemom v bolnišnico in potreba po implementaciji principov usklajevanja zdravljenja z zdravili	81
Matej Dobravc Verbič: Klinični primer bolnika z akutno ledvično odpovedjo po jemanju nesteroidnih protivnetnih zdravil v kombinaciji z diuretikom in zaviralcem angiotenzinske konvertaze	303

Helena Pavšar: Prepoznavanje napada ledvičnih kamnov in svetovanje pacientu v lekarni	308
Barbara Koder, Helena Pavšar: Ukrepanje lekarniškega farmacevta ob izdaji protimikrobnega zdravila kroničnemu pacientu z akutnim vnetjem sečil	312
Zupan J. Novi doktorji znanosti	247
Štrukelj B, Gerzej L. Prebrali smo za vas	252, 319, 378

STROKOVNI ČLANKI

Alenka Premuš Marušič: Farmakoterapijski pregledi v bolnišnicah in v ambulantah – izkušnje in evalvacija dela	187
Bojan Madjar: Pregled uporabe zdravil v javni lekarni	192
Romana Rakovec: eRecept	194
Jan Rakuša: Robotizacija v javnih lekarnah	198
Mulej Mlakar L. Konflikti kot učilnica samospoznavanja: kaj dobrega lahko pridobimo iz njih?	315

IZ DRUŠTVENEGA ŽIVLJENJA IN OSEBNE VESTI

Premuš Marušič A. Simpozij »Delo farmacevta svetovalca v ambulanti / posvetovalnici«	81
Kovačič S. Zdravila v psihiatriji	322
Bizjak V. Poročilo EAHP generalne skupščine 13. – 14. junij 2014, Sofija	324
Stegel B. Z novim kodeksom do bolj transparentnih odnosov med zdravstvenimi delavci in farmacevtskimi podjetji	200
Kristl J. Priznanja SFD 2014	256
Bezjak v. 60. obletnica Gorenjske podružnice SFD	381
Šegula T. 7. simpozij Homeopatske sekcije SFD: Homeopatija v avstrijskih lekarnah	382
Simpozij »Delo farmacevta svetovalca – Farmakoterapijski pregled«	383
Razpis za podelitev društvenih priznanj v letu 2015	385
Osebnosti	326

REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

Peter Pregelj: Starting antidepressants and evaluating effectiveness	3
Virginija Novak Grubič: Off- label use of antipsychotics	7
Matej Štuhec: An identification of the adverse drug reactions and its background in psychiatric patients	11
Miran Brvar: Clinical features, diagnosis and treatment of benzodiazepine overdose	18
Igor Locatelli: Influence of pharmacokinetic properties of antidepressants and antipsychotics on their clinical effects	24
Danila Hriberšek: Choice of psychopharmaceutical among pregnant women and nursing mothers	31
Jurij Fürst, Vita Samaluk: Consumption of psychotropic drugs in Slovenia	39
Vesna Švab: Adherence to drug treatment: holistic approach to the psychiatric patient	42
Sašo Kovačič, Alenka Premuš Marušič: Clinical case example of a clinical pharmacist – consultant	45
Maja Tršinar: Appropriate choice of medicine (recommendations of clinical pharmacist)	49
Maja Tršinar: When and how to switch or discontinue psychotropics	52
Tijana Orešič Barač: Most common mycosis of skin and nails in adolescents and adults – epidemiologic and clinical overview	87
Marjetka Pal: Treatment possibilities for the most common dermatomycoses in adults and adolescents	93
Mateja Lisjak: The most frequent skin diseases of small children	101
Boris Kralj: Systemic treatment of acne in adolescents and young adults	113
Lucija Peterlin Mašič: New drugs affecting thrombosis	118
Štalc Monika, Alenka Mavri: New oral anticoagulants	129

Miha Čerček: Antiplatelet therapy: indications, guidelines and clinical practice	137
Samo Zver: Concomitant disorders of primary and secondary hemostasis and their influence on safety of anticoagulant drug treatment	141
Alenka Helena Jagodic Vilfan: Novel oral anticoagulants: food-drug and drug-drug interactions	147
Iztok Grabnar: Pharmacokinetics of anticoagulant drugs in renal and hepatic impairment	154
Maja Petre: Clinically important differences between anticoagulation drugs	164
Mojca Kolnik, Miran Brvar: Recognition and prevention of adverse reactions due to anticoagulant therapy	171
Zlatka Rakovec – Felser: Adherence to chronic patient's treatment	177
Katarina Mlekuš Kozamernik, Tina Krokter Kogoj, Mojca Jensterle Sever, Andrej Janež: Metabolic syndrome – from pathophysiology to clinical recognition	207
Matej Rakuša, Mojca Jensterle Sever, Andrej Janež: Metabolic syndrome – treatment	221
Damijan Knez, Marko Anderluh: Blood-brain barrier permeation in development of central nervous system agents	227
Katja Kristan: Palatable drug formulations for treatment of dogs and cats	234
Alenka Ilesič: The role of community pharmacist in kidney disease	267
Karmen Bončina: Patient counselling of community pharmacists to patient with urge urinary incontinence	273
Barbara Koder: Urinary tract inflammation and urinary stones treatment – a community pharmacist's view	282
Klemen Jagodič: Surgery treatment of prostatic obstruction with low urinary track symptoms	333



Janez Ilaš, Aleš Obreza: Drugs for treating benign hyperplasia of prostate	337
Nina Kočever Glavač, Damjan Janeš: Benign prostate hyperplasia – can the use of medicinal herbs be helpful?	344
Samo Kreft: Safe and effective: new research and experience with St. John's Wort (<i>Hypericum perforatum</i>) extract	349
Peter Panjan, Borut Štrukelj: Development of gene therapy for glioblastoma	354
Tanja Prunk, Mojca Lunder, Polonca Ferk: The role of ABCB5 transporter in the initiation, invasion and metastatic spread of malignant melanoma and prospects for development of new target substances	361
Nataša Karas Kuželički: New approaches in pediatric acute lymphoblastic leukemia treatment	368

ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

Anže Vasle, Nina Landekar, Aleš Mrhar: Analysis of usefulness of database Lexicomp for detecting potential drug-drug interactions	240
Sabina Šoštarić, Pieter Cornu, Alain G Dupont, Stephane Steurbaut, Aleš Mrhar: Analysis of the automated drug-drug interaction system	294
Simon Žakelj, Iztok Grabnar, Aleš Mrhar: Book of Abstracts, 10th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology, September 18-20, 2014. Special Issue. <i>Farm Vestn</i> : 65:1-253.	

PROFFESIONAL ARTICLES

Alenka Premuš Marušič: Pharmacotherapy reviews in hospitals and at an outpatient clinic - experience and evaluation of work	187
Bojan Madjar: Medicines use review in Community Pharmacy	192
Romana Rakovec: eRecept	194
Jan Rakuša: Robotizacija v javnih lekarnah	198
Mulej Mlakar L. Konflikti kot učilnica samospoznavanja: kaj dobrega lahko pridobimo iz njih?	315

AVTORSKO KAZALO /
INDEX OF AUTHORS
Vol 65, 2014

Anderluh M	227		
Balaban M	60	Janeš D	344
Begelj J	62	Janež A	207, 221
Bezjak V	381	Jensterle Sever M	207, 221
Bončina K	273	Jezeršek Novaković B	73
Bračun L	79	Jošt M	63, 68
Brvar M	171,18	Karas Kuželički N	368
Brvar T	74, 75	Klakočar L	79
Cornu P	294	Knez D	227
Cvan Trobec K	77	Knez L	67, 80, 81, 63, 65, 67, 68, 71, 78, 80
Cvikl M	60, 65	Kočevar Glavač N	344
Čebbron Lipovec N	71	Koder B	282, 312, 72
Čerček M	137	Kolarič B	60, 65
Čufar A	69, 77	Kolenc Peitl P	70
Čufer T	68, 78	Kolnik M	171
Debeljak D	67	Kosnik M	77, 67, 80, 81, 63
Deberšek K	383	Kovačič S	45
Dobravc Verbič M	69, 303	Kraj B	113
Dreger T	70	Kreft S	349
Drofenik P	60, 65	Kristan K	234
Duggan C	67, 80	Kristl J	256
Dupont AG	294	Krokter Kogoj T	207
Erjavec J	80	Krošelj M	70
Farinha H	71	Laaksonen R	67, 63, 65, 80
Ferk P	361	Lainščak M	78
Fürst J	39	Landekar N	240, 59
Gabrovšek P	72	Laptoš T	77
Gerzej L	252, 319, 378	Ležaić L	66
Grabnar I	154	Lisjak M	101
Helena Jagodic Vilfan A	147	Locatelli I	24
Hriberšek D	31	Lunder M	361
Ilaš J	337	Madjar B	192
Ilešič A	267	Mesko Brguljan P	67, 77, 78
Jagodič K	333	Mlekuš Kozamernik K	207
Jančar P	67	Morgan T	62
		Mrhar A	67, 80, 240, 294, 59, 63, 65,71, 77, 79, 81
		Mulej Mlakar L	315
		Nijjar R	67
		Novak Grubič V	7



Obreza A	337
Orešič Barač T	87
Pal M	93
Panjan P	354
Pavšar H	308, 312, 64
Peterlin Mašič L	118
Petre M	164, 60, 65
Pisk N	62, 72
Pislar M	77
Pišek S	64
Pregelj P	3
Premuš Marušič A	187, 45, 82
Primožič A	63
Prunk T	361
Rakovec – Felser Z	177
Rakovec R	194
Rakuša J	198
Rakuša M	221
Režonja R	81, 65
Rožman S	73
Rugelj N	77
Samaluk V	39

Sever M	66
Sočan A	66,70
Sonc M	73
Steurbaut S	294
Šegula T	382
Škrgat-Kristan S	80
Šošarić S	294
Štalc M, Mavri A	129
Štrukelj B	252, 319, 378, 354
Štuhec M	11
Šuškovič S	81, 63, 65
Švab V	42
Tavčar P	61, 73
Toni J	68
Triler N	68
Trobec K	78
Tršinar M	49, 52
Vasle A	240, 59
Volk Markovič P	77
Vrtovec B	66
Zver S	141



+PHARMAMED

INOVACIJE, KI REŠUJEJO ŽIVLJENJA



**VAREN IN ZAPRT SISTEM
PRIPRAVE ZA UPORABNIKA
IN BOLNIKA**



Salus populi est suprema lex.

Dobro ljudi je najvišji zakon,

je naše poslanstvo in odgovornost. Odgovornost slovenski družbi, sočloveku, njegovemu zdravju in dobremu počutju.

Skrbimo, da so kakovostna in varna zdravila, medicinski pripomočki in drugi farmacevtski izdelki dostopni vsem, ki jih potrebujejo. **S kakovostno, učinkovito in nemoteno oskrbo lekarn, bolnišnic in drugih zdravstvenih in veterinarskih organizacij, ...**

Smo ljudje, ki delujejo v dobro ljudi. Že polna štiri desetletja.



FARMA^{pro}

Spletno izobraževanje
za farmacevtske strokovne
delavce v lekarni.

Nov način
pridobivanja
strokovnega znanja.

Dostopnost
24 ur na dan,
7 dni v tednu (24/7).

Možnost uporabe tudi
na pametnem telefonu
ali tabličnem računalniku.

www.farmapro.si

Spletno izobraževanje FarmaPro je namenjeno *strokovni zdravstveni javnosti*.

