

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 1

OSREDNJA TEMA:
FARMAKOVIGILANCA



Pot do zdravja

Naš cilj so zdravi in srečni ljudje. Smo veletrgovca 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 prihodnje!

01 470 98 00 | www.kemofarmacija.si





ODGOVORNI UREDNIK:
Borut Štrukelj

GLAVNA UREDNICA:
Nina Kočevar Glavač

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

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

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

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

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

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

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

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

UVODNIK

Velikost in moč stroke se meri tudi v spoštovanju svojih učiteljev. In slovensko farmacijo zaznamujejo učitelji, pionirji farmacevtske stroke, ki so zaslužni za razvoj in tradicijo vseh vej farmacije v Sloveniji. Tako smo sodelavci uredništva Farmacevtskega vestnika še posebej veseli visokega jubileja našega učitelja in dolgoletnega urednika Farmacevtskega vestnika, prof. dr. Aleša Krbavčiča, ki letos praznuje 80 let. Da je prof. Krbavčič še vedno polno vpet v stroko, dokazuje tudi njegov prispevek s področja zgodovine farmacije v tej številki Farmacevtskega vestnika. Spoštovani prof. Krbavčič, še na mnoga leta!

Uvodna prispevka, ki ju je pripravila dr. Metka Plečnik s sodelavci, sta namenjena farmakovigilanci, področju farmacije, ki se pogosto omenja v zvezi z zakonodajnimi smernicami. Kakšne so zahteve in postopki, si lahko preberete v današnji številki. V okviru raziskovalnih člankov se lahko seznanimo z nadzorom kakovosti filtriranih eritrocitnih pripravkov, o implementaciji avtomatiziranega testnega sistema pirogenosti ter o novem v nevromodulatornem zdravljenju bolečine po operaciji ledvene hrbtenice. Stroka je bogatejša tudi za nove doktorje znanosti s širšega področja farmacije in biomedicine. Da bi imeli vpogled v najnovejše znanstvene raziskave, prilagamo vsebine njihovih doktorskih del.

V pričakovanju pomladi vas v imenu uredništva Farmacevtskega vestnika lepo pozdravljam in vam želim prijetno branje.

*Prof. dr. Borut Štrukelj
Odgovorni urednik Farmacevtskega vestnika*



VSEBINA / CONTENT

STROKOVNI ČLANKI – PROFESSIONAL ARTICLES

- 3 Metka Plečnik, Katja Z. Istenič
Ali sledimo spremembam v farmakovigilančni zakonodaji?
Are we up to date with changes in pharmacovigilance legislation?
- 8 Metka Plečnik, Katja Z. Istenič
Farmakovigilančne inšpekcije
Pharmacovigilance inspections
- 12 Aleš Krbavčič
Lekarniški račun Domenica Amadorija za grofa Wolfganga Engelberta Auersperga, izstavljen 1670 v Ljubljani
The apothecaries bill by Domenico Amadory issued for count Wolfgang Engelbert Auersperg in 1670 in Ljubljana

ORIGINALNI ZNANSTVENI ČLANKI – ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

- 19 Katja Perbil Lazič, Marija Šega, Lidija Lokar
Nadzor kakovosti filtriranih eritrocitnih pripravkov v obdobju 2010–2014
Quality control of filtered red blood cell components in the period 2010–2014
- 25 Mateja Tršan, Stanko Srčič
Implementacija avtomatiziranega testnega sistema testiranja pirogenosti v bolnišnični proizvodnji parenteralnih raztopin
The implementation of the automatic test system for pyrogenicity testing in hospital parenteral production
- 38 Tomaž Velnar, Marjan Zaletel, Tadej Strojnik
Kratek opis nevromodulatornega zdravljenja vztrajajoče bolečine po operaciji ledvene hrbtenice
Neuromodulatory Treatment of Failed Back Surgery Syndrome in Brief

44 NOVI DOKTORJI ZNANOSTI – NEW DOCTORS OF SCIENCE

OSEBNE VESTI – PERSONAL NEWS

- 53 Prof. dr. Aleš Krbavčič, 80-letnik
- 55 V spomin Milošu Kovačiču
- 57 Moji spomini na Miloša Kovačiča
- 59 V spomin Alenki Supe

ALI SLEDIMO SPREMEMBAM V FARMAKOVIGILANČNI ZAKONODAJI?

ARE WE UP TO DATE WITH CHANGES IN PHARMACOVIGILANCE LEGISLATION?

AVTOR / AUTHOR:

dr. Metka Plečnik¹, mag. farm.
Katja Z. Istenič², univ. dipl. psih.

¹ Videla d. o. o., Litostrojska 44e, 1000 Ljubljana

² Hočem več, Topniška 70, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
metka.plecnik@videla.si

1 UVOD

Farmakovigilančna zakonodaja. Stalno nove spremembe. Zmeda. Frustracija. Panika. Kdo se sploh znajde v tej poplavi novih predpisov?

Dnevno moramo biti na tekočem z novostmi. Potrebno je proučiti na stotine strani zakonodaje in smernic ter znati izluščiti, kaj je za nas sploh relevantno in kaj ne. Čeprav zahteve morda zelo dobro poznamo, to še ne pomeni, da bomo znali napisati tudi ustrezne postopke. Zlahka se zmotimo, kar lahko za nas pomeni preveč komplicirano in neobvladljivo vsakodnevno delo ali pa napake, ki jim lahko sledi tudi odpoklic zdravil s tržišča. Naše napake nas hitro vodijo v dodatne stroške in zaplete. Kljub splošni zmed in naši pogosti neizkušenosti na zakonodajnem področju mo-

POVZETEK

Farmakovigilančna zakonodaja, ki je stopila v veljavo julija 2012, je dodobra pretresla farmacevtsko industrijo. Vplivala je na imetnike dovoljenja za promet z zdravilom, imetnike dovoljenja za promet na debelo, regulatorne organe, zdravstvene delavce in bolnike. Evropsko farmakovigilančno zakonodajo so objavili leta 2010, vendar je začela veljati dve leti kasneje. Pa tudi takrat se ni začela izvajati v celoti, ampak je za posamezne zahteve veljalo različno dolgo prehodno obdobje, v katerem so se zahteve v različni meri implementirale. Proces še vedno ni zaključen. Na nekaterih področjih nas še vedno čakajo spremembe, ki vplivajo na delo farmacevtskih podjetij, njihovih predstavništev in distributerjev.

KLJUČNE BESEDE:

farmakovigilanca, dobra farmakovigilančna praksa, sistem kakovosti, varnost zdravila, imetnik dovoljenja za promet z zdravilom

ABSTRACT

Pharmacovigilance legislation, which came into effect in July 2012, was a big change for the pharmaceutical industry. It had implications for marketing authorization holders, wholesalers, competent authorities, health-care professionals, and patients. European pharmacovigilance legislation was issued in 2010 and came into effect two years later, but not for all activities. Some of the requirements have different transitional periods and different transitional implementation measures. This is still an ongoing process. We can still expect changes in some area, which will have implications on the work in pharmaceutical companies, their representatives, and wholesalers.

KEY WORDS:

Pharmacovigilance, good pharmacovigilance practice, quality system, safety of medicinal product, marketing authorization holder

ramo oblikovati ustrezne postopke, ki nam dela dodatno ne zapletajo, temveč so nam resnično v pomoč.

Kako se vsega tega naučiti? Kako spremembam slediti ter istočasno najti čas in energijo še za sprotno delo? Kaj nam pravzaprav prinaša farmakovigilančna zakonodaja?

Po podatkih Evropske Agencije za zdravila (EMA) neželeni učinki vsako leto povzročijo smrt 197.000 bolnikov v Ev-

ropski uniji. Namen uvedbe spremenjene farmakovigilančne zakonodaje je bil zmanjšanje števila neželenih učinkov. Poleg tega farmakovigilančne aktivnosti varujejo zdravje bolnikov tudi s tem, da pravočasno obveščajo bolnike, zdravnike in javnost o informacijah, povezanih z varnostjo zdravil. Cilj naj bi dosegli z izboljšanim sistemom poročanja neželenih učinkov, s hitro in zanesljivo oceno varnosti zdravila, z učinkovitim reagiranjem regulatornih organov ob spremenjenem varnostnem profilu zdravila, z večjim vključevanjem bolnikov v poročanje varnostnih informacij, večji transparentnosti sistema in izboljšani komunikaciji med vsemi partnerji v farmakovigilančnem sistemu (1).

Evropska farmakovigilančna zakonodaja je začela veljati julija 2012 po objavi prvih smernic dobre farmakovigilančne prakse. Sedaj so izdani že vsi moduli dobre farmakovigilančne prakse, nekatere so že prvič revidirali.

V slovenskem prostoru farmakovigilančne zahteve predpisujeta Zakon o zdravilih in Pravidnik o farmakovigilanci zdravil za uporabo v humani medicini. Oba se sklicujeta na evropsko zakonodajo in smernice o dobri praksi na področju farmakovigilance (GVP). Smernice so v modularni obliki objavljene na spletni strani Evropske agencije za zdravila in jih nenehno posodablja. Udeleženci v farmakovigilančnem sistemu morajo slediti tem spremembam in svoj farmakovigilančni sistem nenehno prilagajati. Navodil in informacij je veliko.

Farmakovigilančne smernice so obsežni dokumenti, ki dovolj natančno opisujejo zakonodajne zahteve. Na spletni strani EMA so na voljo tudi internetne predstavitve, izobraževanja, pregledi novosti ter vprašanja in odgovori po posameznih področjih.

Glavna težava farmakovigilančnih oddelkov je, kako na podlagi obilice zahtev in podatkov izdelati farmakovigilančni sistem, ki bo omogočal varno uporabo zdravil, zadostil spreminjajočim se regulatornim zahtevam in hkrati minimalno obremenjeval poslovni proces podjetja.

V nadaljevanju navajamo kratek povzetek farmakovigilančnih smernic in glavnih sprememb, ki nas čakajo. Implementacija zahtev v farmakovigilančni proces je odvisna od vrste podjetja in tipa zdravil in je zato za vsako podjetje drugačna.

kakovosti v farmakovigilanci, ki jim omogoča spremljanje informacij o varnosti zdravila in zaznavanje sprememb v razmerju med koristjo in tveganjem pri uporabi vsakega zdravila. V sistemu kakovosti so določene odgovornosti udeležencev, definirani so procesi in splošni postopki ter ravnanje v primeru odstopov. Vsi udeleženci morajo biti primerno izobraženi, vse aktivnosti ustrezno dokumentirane. Za implementacijo sistema kakovosti je odgovorno vodstvo podjetja. Ob spremembah je potrebno sistem kakovosti spremeniti ali dopolniti. Določene spremembe lahko načrtujemo in s tem tudi optimiziramo posodobitev sistema kakovosti (2, 3).

Kako nam sistem kakovost koristi? Omogoča nam enostavnejše uvajanje novo zaposlenih, nadomeščanje odsotnih sodelavcev ter preprečevanje napak. Če se odstopi kljub temu zgodijo, omogoča hitrejšo in boljše odpravljanje napak. S povečano transparentnostjo, definiranimi odgovornostmi in procesi ter zmanjševanjem odstopov dober sistem kakovosti podjetju občutno zmanjša stroške.

MODUL II: GLAVNI DOSJE O SISTEMU FARMAKOVIGILANCE

Glavni dosje o sistemu farmakovigilance (PSMF, *Pharmacovigilance System Master File*) je od julija 2015 obvezen za vsa zdravila. Vsi imetniki dovoljenja za promet z zdravilom torej sedaj že imajo PSMF, ki ga morajo na zahtevo agencij za zdravila v 7 dneh predložiti. Redno ga morajo posodabljati, podatki v njem morajo biti vedno veljavni. PSMF opisuje farmakovigilančni sistem imetnika dovoljenja za promet. Odgovorni osebi za farmakovigilanco omogoča pregled nad vsemi farmakovigilančnimi aktivnostmi, preverjanje skladnosti z regulatornimi zahtevami, planiranje nadzorov, pregled izvajanja korektivnih ukrepov in ključnih kazalcev kakovosti (4).

Od 1. februarja 2016 na agencije za zdravila ni več potrebno vlagati sprememb podatkov odgovorne osebe za farmakovigilanco ali lokacije PSMF kot spremembe tipa IA, ampak je dovolj, da te podatke spremenimo v podatkovni zbirki iz člena 57 Uredbe ES št. 726/2004 (5).

MODUL III: FARMAKOVIGILANČNE INŠPEKCIJE

Evropske agencije za zdravila imajo izdelan inšpekcijski program za pregledovanje farmakovigilančnih sistemov. Poleg rednega programa, določenega na podlagi ocene tveganja, izvajajo tudi izredne inšpekcije (6). Inšpekcije so največkrat napovedane, možne pa so tudi nenapovedane inšpekcije. Inšpektorji pregledajo globalne aktivnosti in procese, ki se nanašajo na zdravila, registrirana v Evropski

2 SMERNICE DOBRE FARMAKOVIGILANČNE PRAKSE

MODUL I: FARMAKOVIGILANČNI SISTEM IN SISTEM KAKOVOSTI

Imetniki dovoljenja za promet z zdravilom in imetniki dovoljenja za promet na debelo (distributerji) morajo imeti sistem

uniji, ali zdravila, ki na dovoljenje za promet še čakajo. V primeru hujših ali ponavljajočih se kršitev imajo inšpektorji na voljo različne kazni, od izobraževanja in ponovne inšpekcije do prenehanja veljavnosti dovoljenja za promet ali odpoklica zdravila. Pri hudih kršitvah lahko inšpektorji določijo finančne kazni, ki so odvisne od prihodkov podjetja, lahko pa pride tudi do sodne obravnave odgovornih oseb (7).

MODUL IV: FARMAKOVIGILANČNI NADZORI

Nadzori farmakovigilančnega sistema zagotavljajo skladnost sistema z regulatornimi zahtevami. Nadzor farmakovigilančnega sistema je sistematičen, neodvisen, dokumentiran proces, ki na podlagi dokumentacije, pregleda prostorov in izjav odgovornih oseb oceni skladnost farmakovigilančnega sistema z zahtevami. Nadzore je potrebno planirati glede na oceno tveganja, v plan nadzorov je potrebno vključiti vsa podjetja, ki opravljajo farmakovigilančne aktivnosti, tudi podružnice, pogodbene izvajalce in partnerje. Nadzornik mora biti ustrezno izobražen, neodvisen in objektiven, o rezultatih nadzora poroča vodstvu podjetja (8).

MODUL V: SISTEMI ZA OBVLADOVANJE TVEGANJA

Ena najpomembnejših farmakovigilančnih aktivnosti je obvladovanje tveganja pri uporabi zdravila. Za vsako zdravilo je ob vlogi za registracijo zdravila potrebno predložiti plan obvladovanja tveganja (RMP, *Risk Management Plan*), ne glede na to, ali je to originalno ali generično zdravilo. Predložitev novega plana obvladovanja tveganja je potrebna tudi pri vlogi za spremembo zdravila, ki se nanaša na novo farmacevtsko obliko ali jakost zdravila, drugačno pot uporabe zdravila, spremenjen proizvodni proces biotehnološkega zdravila, pediatrično indikacijo ali drugo pomembno spremembo indikacije zdravila. Farmacevtska industrija se je zato že prilagodila zahtevi po večjem številu podrobnih načrtov za obvladovanje tveganja zdravil. Večino aktivnosti in odgovornosti v sistemu obvladovanja tveganja nosi imetnik dovoljenja za promet z zdravilom v povezavi z zdravstvenim sistemom, bolniki in regulatornimi organi. Tudi distributerji zdravil so vključeni v sistem obvladovanja tveganja zdravil (3).

Namen sistema obvladovanja tveganja za vsako zdravilo je spremljanje razmerja med koristjo in tveganjem pri uporabi zdravila. Zato je poleg podatkov o varnosti zdravila potrebno tudi zbiranje podatkov o njegovi učinkovitosti pri posebnih skupinah bolnikov (9).

MODUL VI: POROČANJE O NEŽELENIH UČINKIH ZDRAVIL

Imetniki dovoljenj za promet z zdravili in njihovi predstavniki morajo imeti sistem, ki omogoča zbiranje in poročanje o neželenih učinkih zdravil v predpisanem časovnem intervalu. Sistem kakovosti mora zagotavljati, da so zbrane informacije popolne in točne ter da omogočajo znanstveno oceno poročil. Sistem kakovosti mora omogočati tudi pravočasno obdelavo in poročanje neželenih učinkov, povezanih s ponarejenimi zdravili ali slabo kakovostjo zdravil, in možnost odpoklica zaradi varnostnih razlogov.

Tudi distributerji morajo imeti glede na Zakon o zdravilih in Pravilnik o farmakovigilanci sistem kakovosti, ki omogoča poročanje o neželenih učinkih in ravnanje v primeru prejetih nujnih varnostnih informacij. Način poročanja je v tem primeru drugačen (3, 10).

Zahteve za poročanje o neželenih učinkih se v prehodnem obdobju spreminjajo. Farmakovigilančni oddelki morajo ves čas slediti spreminjajočim se zahtevam in ustrezno prilagajati svoje postopke. Po vpeljavi ISO-standardizacije identifikacije zdravil bo v veljavo stopilo tudi poročanje o nesresnih neželenih učinkih zdravil v 90-dnevnem roku in centralno poročanje le v podatkovno bazo EudraVigilance. Imetniki dovoljenja za promet se morajo na načrtovane spremembe pravočasno pripraviti (11, 12).

MODUL VII: REDNA POSODOBLJENA POROČILA O VARNOSTI ZDRAVILA

Z novo zakonodajo se je sistem oddaje rednega posodobljenega poročila o varnosti zdravila (PSUR, *Periodic Safety Update Report*) spremenil, saj je pogostost predložitve odvisna od seznama referenčnih datumov Evropske unije. Seznam se spreminja, zato mora farmakovigilančni oddelek redno spremljati nove objave. Regulatorni organi lahko zahtevajo tudi takojšnjo predložitev posodobljenega poročila o varnosti zdravila, zato morajo biti podatki za pripravo poročila vedno na voljo. Poleg pogostosti oddaje se spreminja tudi način oddaje poročil. Poročila bo potrebno oddajati elektronsko v centralno odlagališče, tako imenovani *PSUR Repository* (13).

MODUL VIII: NEINTERVENCIJSKE ŠTUDIJE O VARNOSTI ZDRAVILA

Neintervencijske študije o varnosti zdravila po pridobitvi dovoljenja za promet z zdravilom (PASS, *Post-Authorization Safety Study*) so raziskave, s katerimi spremljamo varnostne informacije registriranih zdravil v skladu z njihovo odobreno uporabo. Imetnik dovoljenja za promet jih lahko izvaja na lastno pobudo ali pa na zahtevo regulatornih or-



ganov. O neželenih učinkih zdravila iz teh raziskav je potrebno poročati v skladu z navodili za poročanje o domnevnih neželenih učinkih zdravil, upoštevajoč vsa prehodna in končna določila za poročanje (14).

MODUL IX: VARNOSTNI SIGNALI

Modul IX uvaja proces zbiranja in ocenjevanja signalov. Imetnik dovoljenja za promet zbira varnostne signale za vsako zdravilo, jih ocenjuje in poroča regulatornim organom. Viri varnostnih signalov so poročila o neželenih učinkih zdravila, klinične raziskave, raziskave po pridobitvi dovoljenja za promet in drugi viri, dostopni imetniku dovoljenja za promet. Pregledati je potrebno podatke o kakovosti, predklinični in klinični uporabi zdravila ter farmakovigilančne in epidemiološke podatke. Procesu detekcije signalov sledijo njihova validacija, analiza, ocena, predlog varnostnega ukrepa in poročanje o novih ali spremenjenih tveganjih pri uporabi zdravila. Vse stopnje morajo biti ustrezno načrtovane in prilagojene posameznemu zdravilu. Imetniki dovoljenja za promet morajo regulatorne organe takoj obvestiti o domnevnih resnih neželenih učinkih zdravila, ki zahtevajo nujno ukrepanje zaradi možnega vpliva na javno zdravje (3, 15).

MODUL X: DODATNO SPREMLJANJE VARNOSTI

Zdravila, ki so na seznamu zdravil za dodatno spremljanje varnosti (*Additional Monitoring List*), imajo na ovojnicini in navodilu za uporabo poln, črn, navzdol obrnjen trikotnik (▼), ki označuje dodatno spremljanje varnosti zdravila. Navadno so to zdravila z novimi učinkovinami, biološka zdravila ali zdravila, za katera so regulatorni organi ugotovili, da je potrebno dodatno spremljanje njihove varnosti. Imetnik dovoljenja za promet mora spremljati spremembe tega seznama zdravil in zagotoviti vse aktivnosti, ki so potrebne za dodatno spremljanje varnosti zdravila (16).

MODUL XV: OBVEŠČANJE O VARNOSTNIH INFORMACIJAH

Za varno uporabo zdravil je potrebna v primeru novih ali nujnih informacij o varnosti zdravila koordinirana in enotna komunikacija z javnostjo. Imetniki dovoljenja za promet z zdravili in distributerji morajo imeti vpeljan sistem aktivnosti za primer obveščanja javnosti o varnostnih informacijah zdravila. Vse informacije pregledajo in odobrijo regulatorni organi (17).

MODUL XVI: UKREPI ZA ZMANJŠEVANJE TVEGANJA

Včasih rutinski ukrepi za zmanjševanje tveganja, kot so informacije o zdravilu, ovojnicina ter način izdajanja zdravila

ne zadostujejo in je potrebno vpeljati še dodatne ukrepe. Dodatne ukrepe je treba skrbno načrtovati glede na tveganje pri uporabi zdravila in ciljno populacijo, redno moramo ocenjevati tudi njegovo korist. V nasprotnem primeru bi lahko tovrstni ukrepi pomenili le nepotrebno delo za imetnike dovoljenja za promet, regulatorne organe, zdravstveni sistem in bolnike. Med dodatne ukrepe lahko sodijo izobraževalni programi za zdravnike ali bolnike, obvestila za zdravnike ali omejevanje dostopa do določenega zdravila. V zadnjem primeru je potrebno v sistem vključiti tudi sodelujoče v distribuciji in izdaji zdravil (18).

3 SKLEP

Namen nove farmakovigilančne zakonodaje je bil zmanjševanje neželenih učinkov zdravil in s tem izboljšanje počutja bolnikov in prihranek stroškov v zdravstvenem sistemu. Spremembe evropske farmakovigilančne zakonodaje so tako obsežne, da bo njihova uvedba trajala še več let. Postopno uvajanje sprememb po eni strani omogoča udeležencem v farmakovigilančnem sistemu načrtovanje in pripravo sistemov, po drugi strani pa nenehne spremembe motijo poslovne procese in begajo zaposlene. Implementacija zahtev v farmakovigilančni proces je odvisna od vrste podjetja in tipa zdravil in je za vsako podjetje drugačna. Vsaj podjetja, ki so udeležena v farmakovigilančnem procesu morajo izbrati farmakovigilančni sistem, ki jim bo omogočal redno spremljanje varnostnega profila vsakega zdravila, omogočal obvladovanje sprememb, zagotavljal skladnost z regulatornimi zahtevami in bo stroškovno učinkovit. Kako se bomo tega lotili, je seveda naša odločitev. Podjetja se vse pogosteje odločajo za zunanjo strokovno pomoč. Strokovnjak, izkušen na področju farmakovigilančne zakonodaje, nam pomaga pri organizaciji aktivnosti, pripravi ustreznih postopkov in odgovori na naša vprašanja. To nas odreši marsikatere skrbi, nam olajša delo, predvsem pa občutno zmanjša možnost napak.

4 LITERATURA

1. European Medicine Agency. Pharmacovigilance legislation. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/special_topics/general/general_content_000491.jsp&mid=WC0b01ac058058f32d. Dostop: 25-01-2016.



2. European Medicine Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module I – Pharmacovigilance systems and their quality systems*, HMA 22.6.2012.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
3. *Pravilnik o farmakovigilanci zdravil za uporabo v humani medicini*. Uradni list RS, št. 57/14 z dne 25.7.2014.
<http://www.uradni-list.si/1/content?id=118584#/Pravilnik-o-farmakovigilanci-zdravil-za-uporabo-v-humani-medicini>. Dostop: 25-01-2016.
4. European Medicine Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module II – Pharmacovigilance system master file (Rev 1)*, HMA 9.4.2013.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
5. European Medicine Agency. *Regulatory information – Green light for reliance on Article 57 database for key pharmacovigilance information on medicines for human use in Europe*. 18.12.2015.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2015/12/news_detail_002451.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1. Dostop: 25-01-2016.
6. Javna agencija Republike Slovenije za zdravila in medicinske pripomočke. *Nadzor na področju farmakovigilance*.
http://www.jazmp.si/zdravila_za_uporabov_humani_medicini/na_dzor/nadzor_na_podroczju_farmakovigilance/. Dostop: 19-01-2016.
7. European Medicine Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module III – Pharmacovigilance inspections (Rev 1)*. HMA 8.9.2014.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
8. European Medicine Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module IV – Pharmacovigilance audits (Rev 1)*. HMA 3.8.2015.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
9. European Medicine Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module V – Risk management systems (Rev 1)*. HMA 15.4.2014.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
10. *Zakon o zdravilih*. Uradni list RS, št. 17/2014 z dne 7.3.2014.
<http://www.uradni-list.si/1/objava.jsp?urlid=201417&stevilka=539>. Dostop: 25-01-2016.
11. European Medicine Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module VI – Management and reporting of adverse reactions to medical products (Rev1)*, HMA 8.9.2014.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
12. European Medicines Agency. *Pharmacovigilance Programme Update*. Issue 6, December 2015.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_000520.jsp&mid=WC0b01ac05804fa031. Dostop: 25-01-2016.
13. European Medicines Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module VII – Periodic safety update report (Rev 1)*, HMA 9.12.2013.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
14. European Medicines Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module VIII – Post-authorisation safety studies (Rev 1)*, HMA 19.4.2013.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
15. European Medicines Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module IX – Signal management*, HMA 22.6.2012.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
16. European Medicines Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module X – Additional monitoring*, HMA 19.4.2013.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
17. European Medicines Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module XV – Safety communication*, HMA 22.1.2013.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
18. European Medicines Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module XVI – Risk minimisation measures: selection of tools and effectiveness indicators (Rev 1)*, HMA 15.4.2014.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.

FARMAKOVIGILANČNE INŠPEKCIJE

PHARMACOVIGILANCE INSPECTIONS

AVTOR / AUTHOR:

dr. Metka Plečnik¹, mag. farm.

Katja Z. Istenič², univ. dipl. psih.

¹ Videla d. o. o., Litostrojska 44e, 1000 Ljubljana

² Hočem več, Topniška 70, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

metka.plecnik@videla.si

1 UVOD

Predstavljajte si, da je danes k vam prišel inšpektor. Ste podjetje, ki prodaja svoja zdravila v več evropskih državah. Zadnji trije tedni so bili za vas resnično stresni in kaotični. Na inšpekcijo ste se skušali čim bolj pripraviti, a ste imeli preprosto premalo časa in tudi premalo izkušenj z inšpekcijami, da bi vedeli, kaj ustrezna priprava sploh pomeni. Med samo inšpekcijo ste se počutili živčne in negotove. Ob poslušanju inšpektorjevih zaključkov se vam kar zamegli pred očmi. Veliko odstopov je kritičnih. Od vas zahtevajo kazen v višini 5 % prihodkov od prodaje zdravil. Dobili ste prepoved prodaje zdravil za en mesec. Grozi vam celo zapor. Le kaj boste sedaj storili? Kako bodo na to odreagirali vaši sodelavci, partnerji, stranke? Kaj to pomeni za poslovanje in ugled podjetja? Ko vsaj do tega sploh ne bi prišlo!

2 KAKO AGENCIJE NAČRTUJEJO INŠPEKCIJE?

Agencije načrtujejo inšpekcije glede na oceno tveganja podjetja. V ta namen lahko agencije udeležencem v farmakovi-

POVZETEK

Implementacijo farmakovigilančne zakonodaje v vsakodnevne aktivnosti podjetja nadzorujejo nadzorniki in farmakovigilančne inšpekcije. Inšpekcije nadzorujejo imetnike dovoljenja za promet, njihova predstavništva, proizvajalce zdravil, ponudnike farmakovigilančnih storitev, imetnike dovoljenja za promet z zdravilom na debelo in uvoznike. Farmakovigilančne inšpekcije opisuje Modul III smernic o dobri praksi na področju farmakovigilance in postopki ter smernice, ki so jih izdali farmakovigilančni inšpektorji Evropske unije. Farmakovigilančne inšpekcije pregledujejo tudi aktivnosti drugih oddelkov, ki so povezani s farmakovigilančnim, zato je ob implementaciji farmakovigilančnega sistema kakovosti smiselno pregledati vse aktivnosti in procese, ki se nanašajo na farmakovigilanco. Kazni za neustrezen sistem so lahko visoke, ugled podjetja se ob javni objavi nepravilnosti zmanjša, možni so tudi odpoklici zdravil s trga.

KLJUČNE BESEDE:

farmakovigilanca, inšpekcija, odstopi

ABSTRACT

The implementation of pharmacovigilance legislation to daily activities of the company is checked by auditors and pharmacovigilance inspections. Inspections are performed at the marketing authorization holders, their representatives, manufacturers, contracted pharmacovigilance organizations, wholesalers, and importers. Pharmacovigilance inspections are described in Module III of good pharmacovigilance practice and guidelines and procedures, issued by the European Union pharmacovigilance inspectors. Pharmacovigilance inspections also check activities of other departments, connected with pharmacovigilance department. Therefore, it is important to check all pharmacovigilance related activities and processes during the implementation of pharmacovigilance quality system. Sanctions for non-compliance could be quite severe, company's reputation is reduced when inspection's findings are public listed, recall of medicinal products from the market is also possible.

KEY WORDS:

Pharmacovigilance, inspection, findings

gilančnem sistemu pošljejo vprašalnike, na podlagi katerih ocenijo stopnjo tveganja posameznega podjetja. Tveganje lahko predstavlja združevanje podjetij, menjava odgovorne osebe za farmakovigilanco ali lokacije glavnega dosjeja za farmakovigilanco, slaba komunikacija z regulatornimi organi, neustrezno poročanje o neželenih učinkih zdravil, neustrezna implementacija varnostnih informacij zdravila ali informacije o odstopih na drugih inšpekcijskih področjih (dobra proizvodna, distribucijska, klinična praksa) (1).

Nacionalne agencije za zdravila pripravijo letni plan inšpekcij in pri tem upoštevajo vse informacije o predhodnih inšpekcijah, ki so jih v skupen seznam vpisali inšpektorji posameznih držav. S tem se izogonej podvajanju inšpekcij in obseg inšpekcije osredotočijo na aktivnosti, ki jih še niso pregledali (2). V primeru imetnikov dovoljenja za promet z zdravili, registriranimi po centraliziranem postopku, izvedejo prvo farmakovigilanco inšpekcijo v štirih letih po registraciji prvega zdravila po centraliziranem postopku, nadaljnje pa glede na oceno tveganja vsaj na štiri leta (1, 3).

3 POTEK INŠPEKCIJE

Ob napovedi inšpekcije inšpektor zahteva kopijo glavnega dosjeja farmakovigilančnega sistema, lahko pa tudi kopije drugih dokumentov, ki jih potrebuje za pripravo na inšpekcijo. Inšpekcija poteka v skladu z napovedanim urnikom. Urnik lahko med inšpekcijo dopolnijo, vendar mora biti dopolnitev dokumentirana. Na uvodnem sestanku se predstavi inšpektor in podjetje. Med svojim delom inšpektorji pregledujejo dokumentacijo, preverjajo računalniške sisteme in baze podatkov ter se pogovarjajo z zaposlenimi (4). Inšpektorji pregledujejo, če:

- ima imetnik dovoljenja za promet ali pogodbeni izvajalec učinkovit sistem kakovosti, ki omogoča spremljanje varnosti registriranih zdravil,
- redno vzdržuje glavni dosje o farmakovigilančnem sistemu,
- ustrezno dokumentira vse svoje aktivnosti,
- ima dovolj ustreznega in izobraženega osebja za vzdrževanje farmakovigilančnega sistema (1, 4).

Inšpektorji navadno pregledajo ustreznost farmakovigilančnega sistema glede na zahteve vseh modulov smernic dobre farmakovigilančne prakse. Inšpekcijsko poročilo Evropske unije v povzetku predvideva pregled naslednjih področij:

- odgovorna oseba za farmakovigilanco in namestnik, delegiranje aktivnosti,
- glavni dosje o farmakovigilančnem sistemu – vsebina, vzdrževanje,
- splošni postopki in izobraževanje,
- pogodbe,
- redna posodobljena poročila o varnosti zdravila (PSUR), načrtovanje oddaje, kontrola kakovosti,
- sistem za obvladovanje tveganja, plan obvladovanja tveganja,
- zbiranje in poročanje neželenih učinkov iz vseh virov,
- računalniški sistemi in baze podatkov,
- klinične raziskave, povezava s farmakovigilančnimi bazami podatkov,
- varnostni signali, zbiranje, pregledovanje, pravočasna posodobitev informacij o zdravilu,
- kakovost zdravil, pregled reklamacij,
- arhiviranje,
- sistem kakovosti, nadzori, proces korektivnih in preventivnih ukrepov,
- izobraževanje o farmakovigilanci,
- oddelek za regulatorne aktivnosti, posodobitev informacij o zdravilih, komunikacija z regulatornimi organi,
- medicinski oddelek, povezava medicinskih vprašanj in farmakovigilance (5).

Inšpektorji si vse pripombe beležijo in jih ocenijo glede na stopnjo tveganja na manjše, večje in kritične odstopke. Med manjše odstopke sodijo odstopi, ki naj ne bi vplivali na pravice, zdravje ali počutje bolnikov ali na javno zdravje. Med večje odstopke sodijo odstopi, ki bi lahko vplivali na pravice, zdravje ali počutje bolnikov, bi lahko vplivali na javno zdravje ali predstavljajo kršitev zakonodaje ali smernic. Med kritične odstopke pa sodijo odstopi, ki lahko vplivajo na pravice, zdravje ali počutje bolnikov, lahko vplivajo na javno zdravje ali predstavljajo resno kršitev zakonodaje ali smernic (5). Na zaključnem sestanku inšpektorji predstavijo vse odstopke, podjetje pa jih lahko komentira ali dodatno pojasni. Inšpektorji nato napišejo inšpekcijsko poročilo in ga pošljejo podjetju (4).

Podjetje pismeno odgovori na poročilo tako, da pri vsakem odstopu napiše, kako in kdaj ga bo odpravilo. Inšpektorji poročilo pregledajo in če se z načrtom odprave napak strinjajo, izdajo končno inšpekcijsko poročilo ter s tem zaključijo inšpekcijo. Po vsaki inšpekciji regulatorni organ oceni, ali imetnik dovoljenja za promet ustreza zahtevam 9. poglavja Evropske direktive 2001/83/EC. Če jim ne ustreza, mora o tem obvestiti Evropsko agencijo za zdravila, Evropsko komisijo in države članice. Izmenjava informacij temelji na principu, da je inšpekcija

vsake države članice izvedena v imenu cele Evropske unije (6).

4 NAJPOGOSTEJŠI Odstopi

Agencija za zdravila Velike Britanije (MHRA) je na področju farmakovigilančnih inšpekcij med vodilnimi v Evropi. Letno objavljajo poročila o inšpekcijah, pripravljajo izobraževanja in pišejo bloge (7). V obdobju, ki ga zajema zadnje poročilo, so opravili 48 inšpekcij. 15 inšpekcij je bilo prvih farmakovigilančnih inšpekcij imetnika dovoljenja za promet z zdravilom, 21 rutinskih ponovnih inšpekcij, 10 izrednih inšpekcij in 2 inšpekciji na zahtevo Evropskega odbora za humana zdravila (CHMP).

Skupno so odkrili kar 155 manjših, 169 večjih in 27 kritičnih odstopov. Največ kritičnih odstopov je bilo na področju vzdrževanja informacij o zdravilih, sledili so področje varnostnih signalov, farmakovigilančni sistem, sistem kakovosti in sistem obvladovanja tveganja. Največ večjih odstopov je bilo povezanih z varnostnimi signali in poročanjem o neželenih učinkih, sledili sta področji sistema kakovosti in vzdrževanja varnostnih informacij zdravil.

5 KAZNI

Glede na evropsko zakonodajo so regulatorni organi dolžni zagotavljati skladnost podjetij s farmakovigilančno zakonodajo. V primeru ugotovljenih nepravilnosti se glede na vrsto nepravilnosti lahko odločijo za kaznovanje. Na voljo imajo naslednje možnosti:

- izobraževanje in pregled predlaganih korektivnih ukrepov podjetja,
- sporočanje informacije ostalim regulatornim organom,
- ponovno inšpekcijo,
- opozorilno pismo,
- javno objavo imetnika dovoljenja za promet, ki krši zakonodajo,
- ukrepe, povezane z določenim zdravilom (nujni varnostni ukrep, sprememba informacij o zdravilu, ukinitve dovoljenja za promet z zdravilom),
- odpoklic zdravila s trga,

- dopolnitev ali prekinitvev kliničnih raziskav,
- denarne kazni, ki so lahko fiksne ali vezane na prihodke podjetja,
- kriminalistično preiskavo (1).

Največkrat se inšpektorji odločijo za prvo možnost. Ob hudih kršitvah farmakovigilančne zakonodaje so inšpektorji v tujini že izrekli denarne kazni, vezane na prihodek podjetja, prepovedali prodajo vseh zdravil podjetja na določenem trgu in sprožili kriminalistično preiskavo.

6 SKLEP

Farmakovigilančne inšpekcije poleg farmakovigilančnega oddelka pregledajo tudi delo drugih oddelkov, povezanih z varnostjo zdravil. Lahko preverijo odgovornost vodstva podjetja, ravnanje vseh zaposlenih v primeru prejete varnostne informacije, pretok informacij med medicinskim in farmakovigilančnim oddelkom, spremembe informacij o zdravilu in pravočasno uvajanje odobrenih sprememb v proizvodnjo, reagiranje odgovornih oseb v primeru nujnih varnostnih ukrepov, delegiranje nalog, pregled pogodb, sistem kakovosti ...

Kaj lahko naredimo, da bo inšpekcija dobro potekala? Seveda je treba imeti ustrezen farmakovigilančni sistem in slediti zakonodajnim spremembam. Pri tem igra ključno vlogo notranji nadzor. Ob besedi »nadzor« se marsikdo ustraši, a v resnici so za nas notranji nadzori izrazito koristni. Obvezni notranji nadzori nam pokažejo, kakšna je skladnost postopkov podjetja z zakonodajnimi zahtevami. Hkrati služijo kot generalka za inšpekcijo in zaposlene pripravijo na pravo inšpekcijo. Oseba, ki opravlja nadzor pred inšpekcijo, nas opozori na morebitne pomanjkljivosti sistema in nam tudi pomaga pripraviti predloge ukrepov in izboljšav. Na inšpektorjeva vprašanja bomo tako ustrezno pripravljene, zato bo celotna izkušnja za nas bistveno manj stresna. Inšpekcija bo potekala bolj gladko in bo posledično za nas tudi uspešnejša.

7 LITERATURA

1. European Medicine Agency. *Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP), Module III – Pharmacovigilance inspections (Rev 1)*. HMA 8.9.2014.

- http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000345.jsp. Dostop: 25-01-2016.
2. European Medicine Agency. *Union procedure on the coordinaton of EU pharmacovigilance inspections*. EMA 21.3.2014.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000164.jsp&mid=WC0b01ac0580029754. Dostop: 27-01-2016.
 3. European Medicine Agency. *Union procedure on the preparation, conduct and reporting of EU pharmacovigilance inspections*. EMA 21.3.2014.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000164.jsp&mid=WC0b01ac0580029754. Dostop: 27-01-2016.
 4. European Medicine Agency. *EMA Pharmacovigilance Inspection Report*. 27.7.2014.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000164.jsp&mid=WC0b01ac0580029754. Dostop: 27-01-2016.
 5. European Medicine Agency. *Union Procedure on sharing of pharmacovigilance inspection information*. 21.3.2014.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/document_listing/document_listing_000164.jsp&mid=WC0b01ac0580029754. Dostop: 27-01-2016.
 6. Medicines & Healthcare products Regulatory Agency. *Pharmacovigilance inspection metrics report: April 2014 to March 2015*.
<https://www.gov.uk/government/statistics/pharmacovigilance-inspection-metrics-2009-to-present>. Dostop: 29-01-2016.



LEKARNIŠKI RAČUN DOMENICA AMADORYJA ZA GROFA WOLFGANGA ENGELBERTA AUERSPERGA, IZSTAVLJEN 1670 V LJUBLJANI

THE APOTHECARIES BILL BY DOMENICO AMADORY ISSUED FOR COUNT WOLFGANG ENGELBERT AUERSPERG IN 1670 IN LJUBLJANA

AVTOR / AUTHOR:

Prof. dr. Aleš Krbavčič, mag. farm.

*Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani
Aškerčeva 7
1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
ales.krbavcic@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Knez Carlos Auersperg je priznanemu zgodovinarju Petru Radicsu (1836–1912) zaupal ureditev in popis knjižnice Knežjega dvorca. Med dokumenti je Radics našel tudi lekarniški račun lekarnarja Domenica Amadoryja za grofa Wolfganga Engelberta Auersperga, izstavljen leta 1670 v Ljubljani. Med dobavljenim blagom navaja skorjo kininovca, balzam proti kapi in različne destilate rastlinskih drog z eteričnimi olji. V Amadoryjevi lekarni so pripravljali tudi zdravila za hišne služabnike in živino. Radicsev opis računa za zdravila razkriva pomen, aktualnost in širino poslovanja lekarn v poznem 16. stoletju in potrjuje dosegljivost skorje kininovca v Ljubljani.

KLJUČNE BESEDE:

Lekarniški račun 1670, Ljubljana, Lekarnar Dominik Amadory, grof Wolfgang Engelbert Auersperg, knjižnica v Knežjem dvorcu

ABSTRACT

The renowned historian Peter Radics (1836–1912) was assigned by duke Carlos Auersperg to prepare an inventory of Auersperg's house library. Among documents, a bill issued in december 1670 by apothecary Domenico Amadory for count Wolfgang Engelbert Auersperg was found. The modern overseas drug China, an antiapoplectic balm, and several distilled aromatic waters were provided for the count. However, also medicines for house servants and veterinary preparations were prepared by Amadory's office. Radics's publication gives us an brief insight into the diverse assortment of items offered by apothecaries of the late 16th century and supports other sources reporting the use of Chinchona bark in Ljubljana.

KEY WORDS:

Apothecary's bill 1670, Ljubljana, apothecary Dominik Amadory, Count Wolfgang Engelbert Auersperg, library in Dukes mansion

1 UVOD

Zgodovinar in publicist Peter pl. Radics je v žurnalu Hygiea, Praga 1889, objavil članek »Die Geschichte des Apothe-

kenwesens in Krain« (Zgodovina lekarništva na Kranjskem) (1). To delo je v svojih objavah večkrat citiral Franc Minaržik. Ko sem želel nekatere citate preveriti, sem ugotovil, da žurnala Hygiea ni mogoče dobiti v naših knjižnicah. S prijaznim posredovanjem sodelavk Pokrajinskega muzeja Maribor, dr. Valentine Bevc Varl in dr. Jerneje Ferlež, sem kopijo članka dobil iz Nacionalne knjižnice v Pragi.

Žurnal Hygiea je izhajal med leti 1888 in 1891 s podnaslovom »Zeitschrift fuer die Gesamtinteressen der Pharmazie und der verwandten Faechern« v Pragi. Radicsev članek je izšel leta 1889 v šestih nadaljevanjih pod skupnim naslovom »Zgodovina lekarništva na Kranjskem« v prilogi »Standesangelegenheiten« (Stanovske zadeve, op. a.) na straneh 38, 39, 40, 54, 55, 69, 70, 71, 72, 86, 87, 88, 102, 103, 104, 120, 121, zato je citiranje v Minaržikovih delih nepopolno; zaradi podnaslova je bilo v knjižnicah morda spregledano.

Med posebnosti članka »Die Geschichte des Apothekenwesens in Krain« je mogoče šteti Radicsev opis katalogiziranja hišnega arhiva in knjižnice turjaških knezov Auerspergov na lokaciji Turjaškega knežjega dvorca v Gosposki ulici. Auerspergi so imeli v Ljubljani dve stavbi: družinski dvorec poleg Križevniške cerkve, pozidan 1658/1659 z združitvijo treh tam že stoječih hiš, je imel Janez Andrej grof Turjaški (1615–1664). Grof Wolfgang Engelbert Auersperg (Volk Engelbert Turjaški, Žužemberk 1610 – Ljubljana 1673), deželni glavar Kranjske (1649–1673), pa je v bližini v Gosposki ulici začel gradnjo južnega trakta Knežjega dvorca (Fuerstenhoff) na osnovi 1640. leta podedovanega poslopja leta 1660 (slika 1) (2, str. 229). Posebnost v tem dvorcu so bile predstave gledaliških in opernih umetnikov, ki jih je vabil zlasti iz Italije (3). V potresu leta 1895 nekoliko poškodovano poslopje so opustili in dokončno odstranili; Mestna občina ljubljanska je leta 1933 zemljišče kupila od Auerspergov za 360.000 dinarjev.

Na mestu takrat najbogatejše kranjske knjižnice je bila po načrtih arhitekta Jožeta Plečnika in sodelavcev med leti 1937 in 1940 zgrajena Narodna in univerzitetna knjižnica (NUK). O tem poroča dr. Tanja Žigon v monografiji »Zgodovinski spomin Kranjske. Življenje in delo Petra pl. Radicsa (1836–1912)«: Radicsu je knez Carlos Auersperg (knez Karel Viljem Turjaški, 1814–1890) zaupal ureditev in popis arhiva in knjig v turjaški fidejkomisni knjižnici v Knežjem dvorcu v Ljubljani (4).

Radics imenuje knjižnico »Die Hausbibliothek der Auersperge« in poroča, da je vsako od približno 7000 enot imel



Slika 1: Knežji dvorec v Gosposki ulici pred rušenjem (3).

večkrat v rokah. Žal Tanji Žigon ni uspelo najti Radicsevega rokopisa izdelanega seznama. Knjige in listine Auerspergove ljubljanske knjižnice so po potresu leta 1895 prenesli v Avstrijo na grad Loesenstein. Po drugi svetovni vojni so se zvečine porazgubile oziroma so jih prodali na dražbah različnim zbirkam in knjižnicam, največji del je v Kongresni knjižnici v Washingtonu, nekatere tudi v NUK.

S kakšnim knjižnim gradivom se je v arhivu in knjižnici Knežjega dvorca Radics srečal, opisuje Miha Preinfalk v delu »Auerspergi, po sledovih mogočnega tura« (slika 2) (2).

Dominik (Domenico) Amadory je bil v Ljubljani lekarnar od leta 1668. Najprej je bil najemnik lekarniških prostorov v hiši meščanskega špitala na Rotovškem trgu. Meščanski špital je sestavljalo več stavb na prostoru med Špitalskim mostom in Rotovžem (danes Stritarjeva ulica v smeri Mest-



Slika 2: Arhiv v Knežjem dvorcu (2).



Slika 3: Valvasorjeva risba Rotovškega trga (6).

nega trga). Kompleks zgradb je nastal na temelju dobrodelne ustanove ogrske kraljice Elizabete, ki je po smrti svojega moža Karla Martela Anžuskega leta 1342 pri postanku v Ljubljani na poti v Neapelj meščanom podarila to pobožno fundacijo (5, str. 9). Kompleks je poleg cerkve sv. Elizabete sčasoma obsegal več stavb, kot vidimo na sliki 3, sestavljeni na osnovi Valvasorjevih risb. Lekarniški prostori so bili verjetno obrnjeni na Rotovski trg (danes Mestni trg).

Na tem mestu so po potresu leta 1895 zgradili stavbo Kresije, cerkev sv. Elizabete (manjši zvonik na sredini slike) pa so že pred tem opustili in preuredili za trgovske namene (slika 4) (6).

Amadory je nato naveden kot lastnik lekarniških prostorov. Verjetno je že prej kot lekarniški pomočnik delal v teh prostorih, ki so bili pred njim v lasti lekarnarja Dominika Brugnolija. Leta 1666 je po Brugnolijevi smrti iz rok njegovih naslednikov lokal prešel v last Meščanskega špitala in ver-



Slika 4: Špitalska vrata in most v Špitalsko ulico po risbi Valvasorja (6).

jetno je lekarniško poslovanje že takrat prevzel Dominik Amadory. Leta 1670 se je poročil s hčerjo nekdanjega ljubljanskega župana Bosia. V tem času so bili ljubljanski lekarnarji še Henrik Pempelfurt (1658), Janez Jurij Tosch (1672) in Janez Jakob Frey (1631?–1711). Amadoryjeva lekarna je bila sodeč po plačanih davkih med večjimi.

Dominik Amadory je umrl leta 1677. Njegova vdova se je poročila z lekarniškim pomočnikom Janezom Grafenhueberjem, ki je nato vodil lekarno (od 1680). Vidimo torej, da je bilo za vodenje lekarn v Ljubljani poskrbljeno (7).

Radics je v arhivu Auerspergovega knežjega dvorca v Ljubljani našel tudi račune za različno dobavljeno blago in o tem poroča takole (5, str. 70):

»V tako imenovanih izvlečkih (Auszuegeln) Auerspergovega arhiva je med računi visokoknežjega gospodinjstva tudi račun deželnega lekarnarja Dominika Amadoryja za obdobje od januarja do decembra leta 1670. Račun obsega 411 postavk v razponu od 12 fl do 4 kr:

Za njegovo ekscelenco gospodarja deželnega glavarja grofa Wolfa Engelberta Auersperga* navedene postavke so razumljivo najdražje, kar se more razložiti z recepti, ki jih je ordinarius predpisoval, kakor tudi z visokimi cenami za ekscelenco predvidenih zdravil. Tako je na primer njegova ekscelenca prejela 1 funt najboljše kine za 12 fl, drugič dragoceno destilirano vodo za 4 fl 46 kr, potem neki Schlagbalsam za na pot za 4 fl 46 kr in večkrat pripravirani vinski kamen scatulo (škatico) za 2 fl 18 kr itd. Vendar je tudi njegov hlapec enkrat dobil dragocen potilni dekot za 2 fl 24 kr. Tajnik, hišnik, lakaji, kuharica Marinka in še neka druga Marinka, kuhinjska pomočnica, Mathiesel, verjetno grofov komornik, ki je bil večkrat bolan, brivec, ki je zase in za grofa hodil po zdravila v lekarno, kuhar kot pacient in kot zaposleni, nato hlevarji zase in za zaupano jim živino: konje in mule – vsi so na lekarnarjevem seznamu. Vrtnar je kupil pol funta rumenega čebeljega voska za 16 kr /za cepilno smolo/ morda za grofov razkošni zimski vrt z limonovci in pomarančevci. Njegova ekscelenca grof je osebno stopil v lekarno in nabavil neko testo za ribolov za 58 kr.«

Omenjeno »testo za ribolov« je verjetno ribja vaba, ribji omej. Za ribji omej ali ribjo omotico so uporabljali rastline s saponini: *Saponaria officinalis*, *Paris quadrifolia*, *Trollius europaeus*, *Cyclamen purpurascens* in rastlino *Anamirta cocculus*, katere semena vsebujejo zelo toksični pikrotoksin.



Slika 5: Wolfgang Engelbert Auersperg (3).

Z zmanjšanjem površinske napetosti in morda še drugače poškodujejo ribje škrge.

Morda so bili pri nas v ta namen najbolj dostopni gomolji ciklame, ki so jih celo pokladali svinjam (tem ne škodujejo), za omamljanje rib pa so zdrobljene gomolje z namočenimi krušnimi drobtinami oblikovali v testene kroglice.

»Bobrovina za konja je stala 2 fl 39 kr, Cronabethoel za mule je stalo 48 kr.« Kronabethoel, Kranewittoel so za avstrijske dežele značilni sinonimi za brinjevo eterično olje, Juniperi aetheroleum, ki je rubefacient, dezinficient, repelent tudi v veterini. Znana je etanolna raztopina za masažo bolečih sklepov.

»Kakor je bilo že omenjeno, so kuhinja, klet in vrt in celo ri-barjenje njegove ekscelence, vse je potrebovalo pomoč iz

lekarniške latinske kuhinje,« navaja Radics; latinska kuhinja: termin »učena zdravilska kuhna v apotekah« navaja Valentin Vodnik v svojih Kuharskih bukvah (8).

V delu »Landwirtschaftliche Kulturbilder 1486–1886« (9) Radics še enkrat citira podatke iz Amadoryjevega računa: »Kavalirji so si dali pripraviti prav posebno dobro pivo; Kuhar njegove ekscelence gospoda grofa Wolfa Engelberta Auersperga je v lekarni nabavil med drugimi kopunovo žolco za 40 kr, kletarski mojster pa sestavine za pivo po predpisu nekega gospoda Borrija za 3 fl 30 kr.« Sestavine za pivo bi lahko bile poleg hmelja še druge rastline z grenčinami, med sredstvi za preprečevanje skisanja piva so navajali nageljnovke žbice.

Seveda nas zanima, kaj so naštetá zdravila za grofa in njegovo osebje in čemu so služila. Kina, tj. Cortex chinchonae ali skorja kininovca, je bila leta 1670 v Evropi nova rastlinska droga iz Južne Amerike. Zanesljiv podatek o protimrzličnem delovanju je znan od leta 1640, ko je žena španskega podkralja v Limi v Peruju, grofica Ana de Osorio de Chinchon, z uporabo skorje kininovca po hudi vročici ozdravela. Njeno ime je tudi Linne sprejel v botanično ime rastline. Med sinonimi za uprašeno skorjo najdemo ime »kontesin prašek«, po glavnih dobaviteljih patrih jezuitih iz pokrajine Loxa pa »jezuitski prašek«. Iz perujskega indijanskega jezika izvira ime quina-quina, kar prevajamo kot drevesna skorja oziroma kina-kina.

Ljubljanski lekarnar Sigismund Graf (1801–1838) je na Dunaju doktoriral s temo o prepoznavanju kakovosti različnih vrst droge Cortex chinchonae. Iz njegovega dela je mogoče sklepati, da je v sedemdesetih letih 16. stoletja v Evropo prihajala predvsem iz perujskega področja Loxa, ker o njej navaja najstarejša znana imena: Cortex chinae fuscus de Loxa, Cortex peruvianus fuscus optimus (10).

Radics piše, da je grof Auersperg kupoval »najboljšo kino« zato lahko domnevamo, da je lekarnar Amadory poznal zanesljiv vir te droge, verjetno preko beneških veletrgovcev. Seveda pa ne vemo, za katero vrsto ali podvrsto kininovca je šlo.

Še v začetku 19. stoletja so za Cortex chinae navajali na prvem mestu tonično (v smislu spodbujanja delovanja živčevja in prebavil, tudi krvožilnega sistema), nato še stiptično-antiseptično in protimrzlično delovanje pri vročicah različnega izvora. Hkrati so po približno dvestoletnih izkušnjah



že dobro poznali nevarnosti prevelikega odmerjanja ali napačne presoje pri uporabi.

Auerspergu je »najboljša kina« verjetno služila predvsem kot tonik in roborans (*Dispensatorium Viennense*). Morda mu je vino z dobro zdrobljeno namočeno skorjo pripravil kar kuhar? Za *Corticis chinchonae infusum vinosum frigide paratum*, torej hladno pripravljeni infuz v vinu, so navajali naslednji postopek za domačo pripravo: 1 unčo grobo zdrobljene skorje kininovca, prelito z enim funtom belega vina, digerirati pet do šest dni med pogostim mešanjem, kolirati in kolaturo jemati po 2 žlici tri- do petkrat na dan. To je na primer postopek za pripravo, ki ga najdemo v številnih lekarniških specialitetah in farmakopejah (11). Kot tovarniško izdelano zdravilo se je kot roborans obdržalo do naših dni: Kina vino Lek (Lek, tovarna farmacevtskih in kemičnih proizvodov, ob desetletnici obstoja Ljubljana 1955), Monografija v Ph. Jug II (Beograd 1953).

Seveda pa ne smemo spregledati (manj verjetne) možnosti, da se za imenom China skriva *Chinae radix* (to je *Smilax chinae tubera*, takrat bolj znana kitajska droga), domnevni antisifilitik. Ta je bila v Evropi znana že v 15. stoletju. Andreas Vesalius, znameniti anatom in osebni zdravnik Karla V, je o *Chinae radix* napisal monografijo o zdravljenju protina, revme in sifilisa z dekoktom te droge: *Epistola rationem propinandi Chynae Decocti; Venus 1546*. Stoletje kasneje ni bila več tako moderna oziroma zaželeno droga, čeprav jo leta 1795 zgoraj citirana farmakopeja (11) še vedno navaja.

Za katero »dragoceno destilirano vodo« gre, lahko seveda le ugibamo. Vsekakor je Amadory pripravil katerega od številnih destilatov z rastlinskimi drogami z eteričnimi olji, kakršne našteva Lekarnarski red za Vojvodino Kranjsko (12, str. 309–316).

Zagotovo pa je mogoče razložiti »Schlagbalsam« za na pot, tj. balzam proti kapi za popotno rabo, *Balsamum apoplecticum (completum/incompletum)*. Tako imenovani popolni balzam proti kapi je bil sestavljen iz iztisnjene olja muškatah oreškov, destiliranih eteričnih olj sivke, cimeta, rožmarina in nageljnovih žbic in z obveznim dodatkom mošusa, cibetovine in ambre (ambre zaradi specifične arome mnogi bolniki niso prenesli, zato sta bila na voljo dva recepta, eden z ambro, torej kompletni, in balzam brez ambre). Z izdelavo tega zdravila je bilo veliko dela: iztiskanje olja muškatah oreškov je mogoče izpeljati le v stiskalnici, ki stoji v vreli vodi, vsa eterična olja je bilo potrebno preka-

pati iz kakovostnih rastlinskih drog, ki so bile zvečine prekomorske (13, str. 571).

Ta kombinacija je bila prav zagotovo poživljajoče, spodbudilno, morda celo zasvojlino sredstvo. Za ambro so na primer navajali naslednje učinke: pojača živčevje, poživlja in preprečuje krče, razveseljuje duha in poostri čute in podaljšuje življenje. Tako je menda Linne osebno poznal lekarnarja, ki je stalno delal zdravila z ambro in ob tem doživel 160 let! Za ambro je veljalo dajati 2 do 20 gramov večkrat na dan.

Ambra je bila draga snov, pretežno najdena na robovih oceanov, kjer so se zadrževali kiti glavači (*Physeter macrocephalus*). Domnevno izbruhan prebavni ostanki glavonožcev, ki so bili osnovna hrana kitov glavačev, so po dolgotrajni izpostavljenosti morski vodi in svetlobi oksidativno prešli v sivo, od vode lažjo maso sterolov in njihovih oksidacijskih ostankov. Za specifični vonj sta pomembna tetrahidronaftalenska derivata ambroksol in ambrinol. Nekdaj so jo uporabljali kot fiksativ v parfumeriji, še vedno pa je v ponudbi homeopatov. Promet z ambro je sedaj naravovarstveno nadzorovan zaradi zaščite kitov glavačev.

V Amadoryjevem računu je Radics našel tudi postavko za bobrovino (*castoreum*) po ceni 2 fl 39 kr (13, str. 513–515). Tudi bobrovina je bila draga. To je izloček perigenitalnih žlez pri bobru (*Castor fiber*). Takrat predvsem moskovitsko ali sibirsko bobrovino so leta 1710 v lekarnah prodajali 1 lot po 1 fl. Zanimiva je opomba, da je bila bobrovina namenjena konju. Znano je, da je bil grof Volk E. Auersperg ljubitelj živali, na vrtu dvorca v smeri Gradišča je imel več vrst golobov in grlic ter fazane, poroča Radics (9). Morda je imel dragocenega konja, ki je potreboval primerno poživilo: bobrovina je takrat veljala za odlično analeptično sredstvo.

Grof je pri Amadoryju večkrat naročil pripravljene vinski kamen v škatlicah (šatuljah) po 2 fl 18 kr. *Cremor tartari* so imenovali prečiščeni vinski kamen in ga uporabljali za pripravo osvežilne pijače v obliki oslajene vodne suspenzije. Odlično je delovala pri žeji zlasti po vročicah, večji odmerki kot praški so bili potrebni za blago odvajalno in diuretično delovanje. Iz surovega vinskega kamna pripravljene *cremor tartari* je bil torej kalijev hidrogenetartrat s primesjo kalcijevega tartrata. Lekarniški postopek tistega časa je bil takšen, da so iz vinskih sodov postrgani vinski kamen zdrobili, raztopili v zadostni količini pitne vode in raztopino počasi iz-

parevali. Na površini nastajajočo kristalno skorjo so posnemali s penovko in posušeno shranjevali. Odtod starejše ime cremor (smetana) tartari oziroma preparirani vinski kamen oziroma oficinalno Tartarus depuratus (11).

V Radicsevem opisu Amadoryjevega lekarniškega računa omenjeni »ordinarius« ni naveden z imenom. Morda je bil to Franciscus De Coppinis, ki je nastavitveni dekret Kranjskih stanov prejel leta 1644, kot protomedik si je pridobil zaradi posebnih zaslug članstvo v kranjskih deželnih stanovih (14). Znan je po sodelovanju z Valvasorjem: za »Slavo vojvodine Kranjske« je napisal razpravo o topicah na Kranjskem in znamenito poročilo o vrlinah in škodljivosti vina ter zlasti obširno o »doslej neznanih napojih, ki so z njimi našo novotarj željno Evropo drugi deli sveta obdarili, ne pa obogatili.« Svari pred tobakom, kavo, kitajskim čajem in kitajskim lubjem kina-kina. Pri tem imenu droge vidimo, da njen indijanski oziroma ameriški izvor ni bil povsem jasen. Zamenjavali so ime južnoameriške droge, imenovane po španski/perujski grofici Chinchon in res kitajsko drogo, takrat imenovano Chinae radix. To je *Smilax china* L. iz družine lilijevki oziroma njeni gomolji, imenovani tudi China nodosa (15). Na osnovi De Copinisove omembe »indijanskih pijač iz Zahodne Amerike«, na osnovi podatka, da »Des Loeblichen Herzogthumbs Krain neu eingerichtete Apothekerordnung« leta 1710 navaja med Simplicia obe drogi: Chinae radic/China Wurzel (cenejša) in Cortex Chinae Chinae (dražja) (12, str. 135–136), ter na osnovi Radicsevega odkritja, da je grof Turjaški prejemal »najdražjo kino« lahko sklepamo, da je leta 1670 v Ljubljani že bila v rabi skorja kininovcev.

Minaržik navaja po Joannesu Zwelferju, dunajskemu zdravniku in lekarnarju, oziroma po njegovem leta 1677 izdanem delu »Komentarji h Kraljevski farmakopeji«, izdelavo »kopunove žolice«. Navaja jo tudi Lekarnarski red za Kranjsko z imenom »Gelatina ex Capone« in za izdelavo dovoli takso 20 kr. Zwelfer šteje med dekokte tudi »Decoct oder Capaunensultze fuer Schwindsuechtige und Ausgezehrte«.

Minaržik povzema postopek: »Na hiter način in brez trpinčenja usmrčen kapun in jerebica se razrežeta in zdrobita s kostmi vred na male kose, katerim se primešajo še razrezani raki, telečja pljuča, razne dišave in končno še sukus lapuha (*Tussilagao farfara*). Posoda, ki vsebuje to meseno mešanico, se kuha šest ur neprenehoma v vodi (in balneo mariae), nakar se še topla tekočina izpreša skozi lanen žakeljček ter postavi na hladno, da nastane želatina. Tako hladetino so dajali proti pljučnim boleznim, čijih simptom je večkrat plju-

vanje krvi. Naša današnja znanstvena terapija uporablja, kakor je znano, še danes želatino za iste namene. Zanimiva je tudi skrita empirična organoterapija tega predpisa, ki uporablja proti pljučnim boleznim sveža živalska pljuča in končno predpis avtorja, da morata kapun in jerebica biti na hiter nepričakovan način zaklana, ker trpinčenje in trpljenje pred smrtjo zmanjšuje vrednost njihovih sestavin – kar tudi odgovarja prav modernim naziranjem«.

Tako piše Minaržik leta 1926, ko je služboval v lekarni na Bledu (16). Morda pa je bila »kapunova žolica« tudi iskana delikatesa?

Iz časa protireformacije so znane težave s pridobivanjem sposobnih zdravnikov (fizikusov) za delo na Kranjskem (in v drugih notranjeavstrijskih deželah), od koder je verska komisija odgnala mnogo dobrih strokovnjakov (na primer mestnega fizikusa Davida Verbeca). Deželni glavar si je verjetno izbral najboljšega zdravnika in lekarnarja, primerjal je lahko ljubljanske prilike s padovanskimi, kjer je študiral. Zdravniki in zdravila so bili takrat dostopni le dobro situiranim; iz računa je mogoče razbrati, da so grofovi služabniki imeli pri njem neko vrsto zdravstvene oskrbe.

Lekarne so poleg začimb pripravljale in prodajale tudi s sladkorjem konzervirano sadje (condita), marcipan in druge delikatese. Radicsev opis računa za zdravila razkriva pomen, aktualnost in širino poslovanja takratne farmacije in potrjuje dosegljivost skorje kininovca v Ljubljani leta 1670.

2 SKLEP

Radicsevo večkrat citirano delo »Die Geschichte des Apothekenwesens in Krain«, vsebuje kratko poročilo o lekarniškem računu, ki ga je leta 1670 Dominik Amadory, ljubljanski lekarnar, izdal grofu Volku Engelbertu Turjaškemu. Radics je dokument videl, ko je popisoval knjige domače knjižnice Auerspergov v njihovi palači v Gosposki ulici. Knjige in drugi dokumenti so med drugo svetovno vojno in po njej zvečine pristali v velikih nacionalnih ali zasebnih knjižnicah. Ta opis računa za letno dobavo predpisanih zdravil ali brez predpisa prejetih zdravil in drugih izdelkov Amadoryjeve lekarne prikazuje njen javnozdravstveni pomen in dobro založenost tudi s prekomorskimi rastlinskimi drogami.

3 LITERATURA

1. Radics P. *Die Geschichte des Apothekenwesens in Krain. Hygieia, Praga; 1889.*
2. Preinfalk M. *Auerspergi, po sledih mogočnega tura. SAZU; 2005.*
3. Škerlj S. *Italijanske predstave v Ljubljani od XVII do XIX stol. Kronika slovenskih mest. Ljubljana, I. 1934: 179–185.*
4. Žigon T. *Zgodovinski spomin Kranjske. Življenje in delo Pavla pl. Radicsa (1836-1912). Ljubljana 2009: 236.*
5. Radics P. *Die Geschichte des landschaftlichen Zivilspitales in Laibach 1887.*
6. Wester J. *Momenti v razvoju Ljubljane. Kronika slovenskih mest. Ljubljana, I. 1934.*
7. Minaržik F. *Življenjepisne beležke o ljubljanskih lekarnarjih sedemnajstega stoletja. In: Predin Š. Minaržikova zbrana dela II. Mariborske lekarne; 2001: 171–189.*
8. Vodnik V. *Kuharske bukve. Ljubljana 1779. Mladinska knjiga; 1999.*
9. Radics P. *Landwirtschaftliche Kulturbilder 1486–1886 zumeist aus Oesterreich. Leipzig, Gerbhardt, 1887: 82.*
10. Predin Š. *Žiga Graf, slovenski florist, kemik in lekarnar. Mariborske lekarne; 1997: 24–26.*
11. *Pharmacopoea austriaco-provincialis. Viennae, 1795.*
12. Minaržik F. *Kranjski lekarnarski red 1710. In: Predin Š. Minaržikova zbrana dela I. Mariborske lekarne: 309–316.*
13. Ehrmann M. *Handbuch der pharmazeutischen Waren-und Praeparaten-Kunde. Zweyter Band. Wien; 1826: 571.*
14. Borisov P. *Od ranocelništva do začetkov znanstvene kirurgije na Slovenskem. SAZU Ljubljana; 1977: 51–52.*
15. Valvasor JV. *Slava vojvodine Kranjske. Mirko Rupel, Bogomir Gerlanc, prevod in izbor. Mladinska knjiga; 1977: 62–64.*
16. Minaržik F. *Nekaj pripomb k ljubljanski delovni taksii, Bled 1926 leta. In: Predin Š. Minaržikova zbrana dela I. Mariborske lekarne; 2000: 317–326.*

NADZOR KAKOVOSTI FILTRIRANIH ERITROCITNIH PRIPRAVKOV V OBDOBJU 2010–2014 V CENTRU ZA TRANSFUZIJSKO MEDICINO MARIBOR

QUALITY CONTROL OF FILTERED RED BLOOD CELL COMPONENTS IN THE PERIOD 2010–2014

AVTOR / AUTHOR:

Katja Perbil Lazič, univ. dipl. biol.,
spec. med. biokem.

Marija Šega, univ. dipl. biol.,
spec. med. biokem.

Lidija Lokar, dr. med., spec. transf.

*UKC Maribor, Center za transfuzijsko medicino,
Ljubljanska 5, 2000 Maribor*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
katja.perbil@gmail.com

POVZETEK

Za zagotavljanje varnosti, učinkovitosti in kakovosti krvnih komponent je po priporočilih Sveta Evrope predvideno izvajanje kontrole kakovosti pri vsaj 1 % oz. za nekatere dejavnike pri 4 enotah mesečno pripravljenih krvnih komponent in spremljanje predpisanih kazalnikov kakovosti za posamezno komponento krvi.

V petih letih (2010–2014) smo v Centru za transfuzijsko medicino (CTM) UKC Maribor zbrali 107.299 enot polne krvi in jih predelali v 98.999 (92,3 %) enot koncentriranih filtriranih eritrocitov (KEF). Nadzor kakovosti smo izvedli po načrtu pri naključno zbranih 1.417 (1,4 %) enotah KEF. Pri enotah smo 1. dan po njihovi pripravi določali: volumen, hematokrit (Hct), količino hemoglobina (HB) in število preostalih levkocitov ter sterilnost enot, zadnji dan uporabnosti pa še koncentracijo prostega hemoglobina, ki nam po izračunu pokaže odstotek hemolize v enoti krvi. Predpisanim vrednostim za volumen je ustrezalo 96 %, za Hct 98 %, za HB 97 %, za hemolizo 96 % in za število preostalih levkocitov 99 % testiranih enot KEF. Sterilne so ostale vse enote KEF. Rezultati testiranja kakovosti KEF kažejo, da merjeni parametri ustrezajo zahtevam kakovosti in da našim bolnikom zagotavljamo visokokakovostne filtrirane eritrocitne krvne pripravke.

KLJUČNE BESEDE:

nadzor, kakovost, varnost, filtrirani eritrociti v ohranitveni tekočini

ABSTRACT

Guidance of the Council of Europe recommends that the quality control should be performed in a minimum of 1% of all prepared blood components and that definitive quality parameters for each specific blood component should be determined.

In five years (2010-2014), we have collected 107.299 units of whole blood, of which 98.999 (92.3%) units were processed into Leucocyte Depleted Red Cell Concentrate in Additive Solution (LD-AS). The planned quality controls were determined in 1.417(1.4%) of blindly selected LD-AS units. On the first day of their preparation volume, haemoglobin (HB), hematocrit (Hct), and sterility were determined, as well as leukocytes counted by flow cytometry, for each LD-AS unit. On the day



of their expiry, the percentages of hemolysis were additionally assessed.

Volumes were suitable in 96%, Hct in 98%, HB in 97%, sterility in 100%, numbers of residual leukocytes in 99%, and hemolysis in 96% of the tested LD-AS units.

Quality controls of LD-AS units showed that the parameters measured were in accordance with quality requirements and that our patients were treated with high quality filtered red blood cells components.

KEY WORDS:

control, quality, safety, leukodepleted red cell concentrate in additive solution

1 UVOD

Sistem kakovosti v transfuzijski medicini je izjemnega pomena za zagotavljanje optimalne kakovosti in varnosti krvnih komponent, ki so biološkega izvora in zato lahko spremenljive kakovosti. Zato morajo biti vsi postopki, od izbire krvodajalca, odvzema krvi, testiranja vsake odvzete enote, njene predelave v krvne komponente, njihovega shranjevanja v optimalnih pogojih, predtransfuzijskega testiranja, njihovega prevoza in razdeljevanja, do transfuzije bolniku in spremljanja učinka po njeni aplikaciji, strogo nadzorovani in dosledno dokumentirani. Sistem zagotavljanja kakovosti v transfuzijski dejavnosti zahteva strokovno delo, ki je v skladu z načeli dobre proizvodne in laboratorijske prakse (1, 10) in ustreza določilom Evropskih direktiv (2002/98/ES, 2004/33/ES in 2005/61/ES ter 2005/62/ES), prinesenih v nacionalno zakonodajo, ter upošteva Priporočila Sveta Evrope o pripravi, uporabi in zagotavljanju kakovosti krvnih komponent (1, 2, 3). Da bi skupaj z ostalimi članicami Evropske skupnosti zagotovili primerljivo in na nekaterih področjih celo večjo varnost in kakovost krvnih komponent, je slovenski Zakon o preskrbi s krvjo s podzakonskimi akti v celoti usklajen z zahtevami Sveta Evrope in Evropske skupnosti (3, 4, 5, 6).

V okvir sistema kakovosti v transfuzijski dejavnosti so vključeni: vodenje kakovosti in procesov, osebje in organizacija, delovni prostori, oprema in materiali, dokumentacija, zbiranje, testiranje in predelava krvi, nadzor kakovosti, validacija vseh postopkov, pritožbe in odpoklic komponent, obravnava odstopanj, napak in incidentov, korektivni in

preventivni ukrepi, spremljanje neželenih učinkov in dogodkov ter zunanja in notranja presoja (2).

Nadzor kakovosti krvnih komponent je pomemben dejavnik v zagotavljanju njihove varnosti in kakovosti, ki pa ne vključuje le določanja predpisanih posameznih parametrov, temveč tudi analizo vseh neskladnosti, ugotavljanje vzrokov zanje ter korektivne in preventivne ukrepe, ki vodijo k nenehnemu izboljševanju. Pri tem vzorčenje krvnih komponent izvajamo po določenem načrtu. Vse uporabljene reagente, teste, opremo in metode moramo biti validirati. V primeru neustreznih rezultatov ostane krvna komponenta v karanteni, vse dokler dokončno ne razrešimo njenega statusa. Po priporočilih Sveta Evrope moramo nadzor kakovosti opraviti pri najmanj 1 % izdelanih krvnih komponent. V primeru odstopanja določenega kazalnika od predpisane vrednosti povečamo število testiranih enot krvne komponente, ki jo vrednotimo, in analiziramo vse postopke, potrebne za njihovo pripravo, ter izvedemo ustrezne korektivne ukrepe za izboljšanje kakovosti procesa njihove izdelave.

2 MATERIAL IN METODE

Za vsako vrsto krvnih komponent imamo pripravljen letni načrt nadzora kakovosti. Pravilno vzorčenje naključno izbranih vzorcev je izjemnega pomena, saj zagotavlja verodostojne rezultate. Nadzor kakovosti izbranih enot krvnih komponent izvaja vedno oseba, ki neposredno ne sodeluje v procesu preskrbe s krvjo.

Vzorci filtriranih eritrocitov (KEF) pridobimo iz segmentov cevke vrečke, v kateri so shranjeni. Pred vzorčenjem enoto KEF dobro premešamo, nato eritrocite iz segmenta cevke večkrat iztisnemo v vrečko, da s povratnim tokom vanj iz vrečke dobimo reprezentativen vzorec za testiranje. Proizvajalec filtrov (Fresenius) priporoča, da filtracijo, ki traja več kot 45 minut, prekinemo in komponente ne uporabimo za bolnika. Po priporočilih Sveta Evrope moramo vsem enotam KEF določiti volumen. Pri tem uporabljamo tehniko Kern (PLJ2100-ZM).

V vzorcih naključno izbranih enot KEF prvi dan po njihovi pripravi določimo hematokrit (Hct) in koncentracijo hemoglobina (HB) s hematološkim analizatorjem Cell Dyn Ruby (Abbott). Količino HB izračunamo iz koncentracije HB in

volumna pripravka. Zadnji dan uporabnosti testirane enote pa v njenem vzorcu izmerimo še koncentracijo prostega HB, in sicer s spektrofotometrom (Perkin Elmer Lambda 35) na Oddelku za laboratorijsko diagnostiko UKC Maribor. Za izračun odstotka hemolize v posameznem vzorcu uporabimo naslednjo formulo:

$$\text{hemoliza (\%)} = \frac{\text{prosti HB}}{\text{celokupni HB}} \times (100 - \text{hematokrit}).$$

Poleg omenjenih kazalnikov v izbranih enotah KEF določimo tudi število preostalih levkocitov, za kar uporabljamo pretočni citometer Becton Dickinson BD LSR 2 in reagenčni sestav LeucoCount (Becton Dickinson). Vsaj 90 % testiranih enot KEF mora vsebovati manj kot 1×10^6 levkocitov na enoto. Za preiskavo na sterilnost pošiljamo vzorce komponent krvi v Nacionalni laboratorij za zdravje, okolje in hrano v Mariboru. Število posameznih enot, ki jih moramo poslati, določimo s pomočjo formule Paul Erlichovega inštituta (7):

$$0,4 \times \sqrt{\text{predelanih enot}}$$

Vse rezultate statistično obdelamo z računalniškim programom Excel in izračunamo odstotek enot, ki ustrezajo predpisanim kriterijem.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

V petletnem obdobju (2010–2014) smo v Centru za transfuzijsko medicino (CTM) UKC Maribor skupaj s pripadajo-

čima enotama v Murski Soboti in na Ptujju zbrali 107.299 enot polne krvi, ki smo jo predelali v krvne komponente. Tako smo pripravili 98.999 (92,3 %) enot KEF in 6.059 (5,8 %) enot koncentriranih eritrocitov z odstranjenim »buffy coatom« (KEB), slednje izključno v letu 2010. Leta 2011 smo prešli na 100-odstotno filtracijo polne krvi. V preglednici 1 prikazujemo število zbranih enot polne krvi, število in delež enot KEF ter število in delež naključno izbranih enot KEF, pri katerih smo opravili nadzor kakovosti.

Število in delež testiranih enot KEF sta bila v letu 2014 največja, in sicer 322 (1,6 %), najmanjša pa leta 2010, ko smo testirali 188 (1,2 %) enot. V petletnem obdobju smo nadzor kakovosti opravili pri skupno 1.417 (1,4 %) enotah KEF, kar presega priporočeni 1-odstotni delež. Število enot, testiranih za hemolizo, je manjše, saj je potrebno po Priporočilih Sveta Evrope testirati mesečno vsaj 4 enote in ne 1 % enot (2). V Preglednici 2 smo zbrali priporočene vrednosti kazalnikov kakovosti za KEF (2).

Rezultati ugotavljanja kazalnikov kakovosti za KEF v posameznem letu in za skupno petletno obdobje so prikazani v preglednici 3, porazdelitev spremenljivk za posamezne kazalnike na slikah 1, 2, 3, 4 in 5. Hemolizo na koncu shranjevanja (42. dan) smo določali v skupno 441 enotah KEF. V letu 2010 je bila ta pri 93 % od 60 testiranih enot manjša od 0,8 %. Temu kriteriju je leta 2011 ustrezalo 96 % od 97, leta 2012 96 % od 101, leta 2013 98 % od 99 in leta 2014 99 % od 84 testiranih enot. Na kontrolo sterilnosti smo v petletnem obdobju na osnovi izračunov s formulo Paul Erlichovega inštituta poslali skupno 982 enot, pri čemer nobena ni bila bakterijsko kontaminirana.

Preglednica 1: Število enot (E) polne krvi, število in odstotek pripravljenih KEF, število in odstotek naključno izbranih in testiranih enot KEF v obdobju 2010–2014.

Table 1: Number of whole blood units (U), number of U and percentage of Leucocyte Depleted Red Cell Concentrates in Additive Solution (LD-AS), and number and percentage of tested LD-AS units, between 2010 and 2014.

Leto	2010	2011	2012	2013	2014	skupno
Št. E polne krvi/	21.694	22.154	21.181	21.160	21.110	107.299
Št. E KEF(%)	15.138 (69,8)	21.620 (97,6)	20.704 (97,7)	20.775 (98,2)	20.762 (98,4)	98.999 (92,3)
Št. testiranih E KEF (%)/	188 (1,2) *60	312 (1,4) *97	301 (1,5) *101	294(1,4) *99	322(1,6) *84	1.417(1,4) *441

*(enote, testirane za hemolizo)



Preglednica 2: Parametri kakovosti za KEF in njihove priporočene vrednosti (2).

Table 2: Quality parameters of Leucocyte Depleted Red Cell Concentrates in Additive Solution (LD-AS) and their recommended values (2).

Testirani parameter	Zahtevana kakovost	Pogostost kontrol
Volumen	Glede na validirane pogoje 265–340 ml WBF*215–300 ml T&B**	1 % vseh enot
Hematokrit	0,50–0,70	4 enote mesečno
Hemoglobin	Najmanj 40 g/enoto	1 % vseh enot, minimalno 4 enote mesečno
Preostali levkociti	<1x10 ⁶ na enoto	1 % vseh enot, minimalno 10 enot mesečno
Hemoliza ob koncu shranjevanja	0,8 % mase eritrocitov	4 enote mesečno

*WBF – whole blood filtration

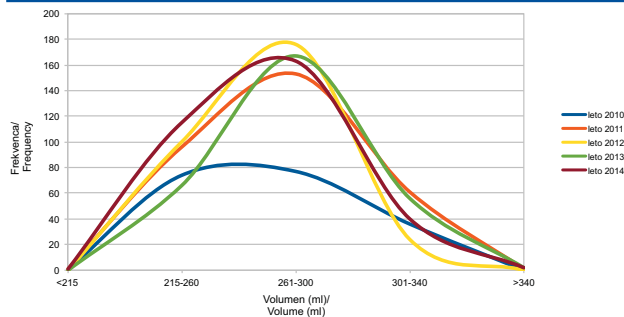
**T&B – top and bottom

Preglednica 3: Kazalniki kakovosti za KEF, določeni v obdobju 2010–2014.

Table 3: Indicators of quality for Leucocyte Depleted Red Cell Concentrates in Additive Solution (LD-AS) for the period from 2010–2014.

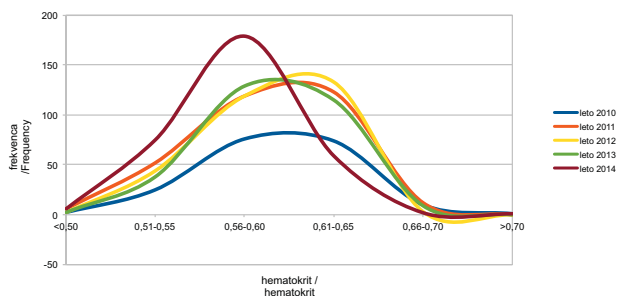
Leto	2010	2011	2012	2013	2014
Volumen (ml) X ± SD% ustreznih E	271 ± 30 98	277 ± 28 97	272 ± 24 94	281 ± 26 98	274 ± 26 94
Hematokrit X ± SD% ustreznih E	0,59 ± 0,04 98	0,59 ± 0,04 99	0,59 ± 0,04 99	0,60 ± 0,04 98	0,58 ± 0,04 98
Hemoglobin (g/enoto) X ± SD% ustreznih E	53 ± 7 98	53 ± 7 96	51 ± 6 96	54 ± 7 98	53 ± 7 98
Št. preostalih levkocitov X ± SD% ustreznih E	0,07 ± 0,13 100	0,05 ± 0,15 99	0,07 ± 0,15 99	0,06 ± 0,18 100	0,09 ± 0,26 99
Hemoliza na koncu shranjevanja Št. testiranih E X ± SD% ustreznih E	60 0,29 ± 0,22 93	97 0,29 ± 0,26 96	101 0,30 ± 0,57 96	99 0,25 ± 0,21 98	84 0,25 ± 0,17 99
Sterilnost Št. testiranih E % ustreznih E	31 100	303 100	218 100	219 100	211 100

Ostali merjeni kazalniki kakovosti, volumen, HB in Hct, so v več kot 90 % ustrezali priporočenim vrednostim. Število preostalih levkocitov po filtraciji smo določili v 1.384 enotah. V letu 2010 je vseh 188 testiranih enot vsebovalo $< 1 \times 10^6$ levkocitov na enoto. Temu parametru je leta 2011 ustrezalo 99 % od 312, leta 2012 99 % od 301, leta 2013 99,6 % od 291 in leta 2014 99% od 292 testiranih enot.



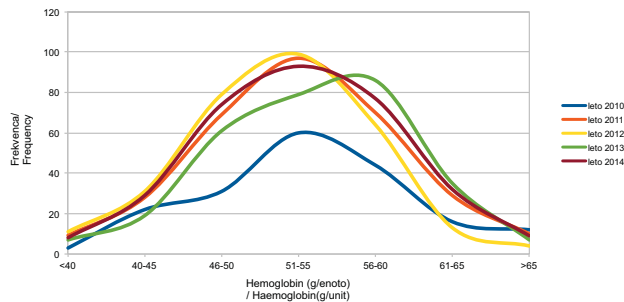
Slika 1: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov – kazalnik kakovosti, volumen.

Figure: Quality control of filtered red cell concentrates – volume.



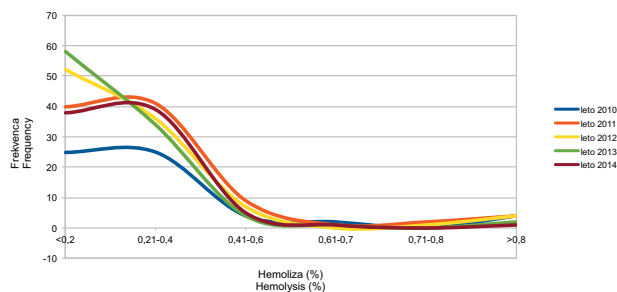
Slika 2: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov – kazalnik kakovosti, hematokrit.

Figure 2: Quality control of filtered red cell concentrates – hematocrit.



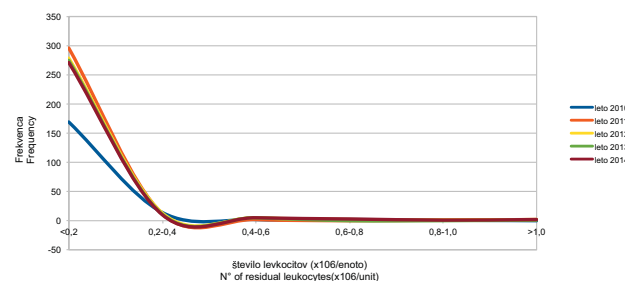
Slika 3: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov – kazalnik kakovosti, hemoglobin.

Figure 3: Quality control of filtered red cell concentrates – haemoglobin.



Slika 4: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov- kazalnik kakovosti, hemoliza ob koncu shranjevanja (42.dan).

Figure 4: Quality control of filtered red cell concentrates – hemolysis at the end of storage period (day 42).



Slika 5: Kontrola kakovosti filtriranih eritrocitov – kazalnik kakovosti, število preostalih levkocitov.

Figure 5: Quality control of filtered red cell concentrates – number of residual leukocytes.

V priporočilih Sveta Evrope so za posamezne komponente krvi opredeljene vrednosti posameznih kazalnikov kakovosti, katerim mora ustrezati vsaj 75 % vseh testiranih enot, razen za parameter število preostalih levkocitov, kjer je potrebna 90-odstotna ustreznost (2). V sistemu zagotavljanja kakovosti varnosti zdravljenja s krvjo, ki naj bi ga po priporočilih Sveta Evrope uvedle vse transfuzijske ustanove, predstavlja nadzor kakovosti krvnih komponent zelo pomemben segment. Ta nadzor kakovosti lahko izvaja le oseba, ki ni neposredno vključena v procese preskrbe s krvjo, a zelo tesno sodeluje z izvajalci, ki jih izvajajo, pri čemer jih je dolžna redno obveščati o rezultatih nadzora (7). Pripravo krvnih komponent izvajajo strokovno usposobljeni delavci po postopkih, ki so jasno zapisani bodisi v obliki standardnih operativnih postopkov (SOP) ali navodil za delo. Nadzirati moramo tudi vse analizatorje oziroma opremo, s katero opravljamo testiranje. Prav tako moramo validirati tudi vse analize postopke. V primeru odstopanja posameznega ali več kazalnikov od priporočenih vrednosti je potrebna analiza vseh postopkov v pripravi testirane komponente. Ko najdemo vzrok za neskladnost, pristopimo k ustreznim korektivnim



ukrepom in nato povečamo število naključno izbranih enot za nadzor kakovosti, s čimer lahko ovrednotimo učinkovitost posameznega popravljalnega ukrepa (5, 7). Za nazornejši prikaz bomo navedli enega od učinkovitih korektivnih ukrepov, ki smo ga izvedli v procesu Predelava krvi. Pri merjenju vrednosti pH na zadnji dan shranjevanja enot koncentriranih trombocitov smo ugotovili, da so te pri skoraj 90 % enot premajhne. Po natančni analizi in predloženih dokazih je proizvajalec vrečk priznal, da je spremenil njihovo sestavo, zaradi česar ni bilo več zadostnega prehajanja kisika do trombocitov. Zaradi tega smo zamenjali proizvajalca in tako odpravili težave s pH vrednostmi v trombocitnih koncentratih.

Grafične predstavitve nadzora kakovosti naključno izbranih enot KEF prikazujejo primerjalno letno porazdelitev izsledkov njihovega testiranja za posamezni kazalnik znotraj petletnega obdobja. Deleži testiranih enot KEF, ki so ustrezale predpisanim vrednostim posameznih kazalnikov kakovosti, so bili v našem primeru vedno večji od priporočenih.

Porazdelitvena krivulja za volumen kaže, da je večina testiranih enot KEF vsebovala od 261–300 ml, razen v letu 2010, ko smo v velikem številu enot izmerili manjšo vsebnost, in sicer 215–260 ml. Vzrok za to je bilo večje število testiranih enot, pridobljenih na osnovi postopka T&B (*top and bottom*), kar pomeni, da smo iz polne krvi pridobili kar tri komponente hkrati, in sicer levkocitno trombocitni koncentrat ali »*buffy coat*« (uporaben za pripravo koncentriranih trombocitov), plazmo in filtrirane eritrocite.

Iz porazdelitvenih krivulj količine hemoglobina v pripravkih KEF lahko sklepamo, da je bila v vseh testiranih enotah njegova povprečna koncentracija med 51–55 g/L. Porazdelitvena krivulja za Hct je za leto 2014 pomaknjena nekoliko v levo, torej proti manjšim vrednostim, kar pomeni, da je bila v testiranih enotah večja vsebnost plazme. Tako je kar 179 od vseh 322 testiranih enot imelo vrednosti Hct med 0,56–0,60. Razlog za to je v večjem številu testiranih enot, pri katerih smo cenrifugiranje opravili samo enkrat, saj smo filtrirali polno kri (WBF, *whole blood filtration*) in iz enote pripravili le sveže zamrznjeno plazmo in KEF in ne tudi »*buffy coat*«.

Porazdelitvena krivulja za hemolizo, ki smo jo ugotavljali na koncu shranjevanja enot KEF, je imela maksimum pod 0,2 %, v letih 2011 in 2014 pa je bil ta pri 0,21–0,40 % mase eritrocitov. Te vrednosti so še vedno precej manjše od dovoljene zgornje meje, ki je 0,80 %. Vrh porazdelitvene krivulje, ki prikazuje rezultate določanja preostalih levkocitov

v testiranih enotah KEF, je pri manj kot $0,2 \times 10^6$, kar kaže na to, da smo s filtracijo odstranili več kot 99,99 % levkocitov (8, 9). Bakteriološke preiskave vzorcev testiranih enot KEF so dokazale popolno odsotnost bakterijskih okužb.

4 SKLEP

Nadzor kakovosti krvnih komponent je pomemben segment v sistemu zagotavljanja kakovosti in varnosti zdravljenja s krvjo. Rezultati analize naših rezultatov nadzora kakovosti komponent filtriranih eritrocitov (KEF) kažejo, da so bolniki pri nas oskrbljeni z visokokakovostnimi pripravki. Vsebnost hemoglobina v posamezni testirani enoti KEF je bila znatno nad minimalno zahtevano količino. Na 42. dan shranjevanja je bila hemoliza v največjem deležu testiranih enot manjša od 0,4 %. Število preostalih levkocitov v testiranih enotah KEF je bilo majhno, v večini primerov manjše od $0,2 \times 10^6$ /enoto. Vse enote, ki smo jih poslali na bakteriološko testiranje, so bile sterilne. Rezultati stalnega nadzora kakovosti KEF torej kažejo, da delamo dobro, vsekakor pa si moramo nenehno prizadevati za še večjo kakovost.

5 LITERATURA

1. American Association of Blood Banks: *Collection, Preparation, Storage, and distribution of components from whole blood donations*; In: Brecher ME. *Technical Manual*. American Association of Blood Banks; 2005: 175–201.
2. Council of Europe: *Guide to preparation, use and quality assurance of blood components, 17th Ed.* Council of Europe Publishing; 2013.
3. Zakon o preskrbi s krvjo. Uradni list RS, št. 104/2006.
4. Pravilnik o zbiranju, pripravi, shranjevanju, razdeljevanju in prevozu krvi in krvnih komponent. Uradni list RS, št. 9/2007.
5. Pravilnik o standardih in tehničnih zahtevah sistema kakovosti za transfuzijsko dejavnost. Uradni list RS, št. 9/2007.
6. Vuk T. Kontrola kvalitete krvnih pripravka. Upravljanje kvaliteto u transfuzijskoj djelatnosti. Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu; 2002: 46–78.
7. Urlep Šalinović V, Perbil Lazič K, Lokar L. Quality control of pre-storage leukodepleted red cell concentrates. *Vox Sanguinis* 2005; 89: 1–72.
8. Urlep Šalinović V, Lokar L, Perbil Lazič K. Quality control of pre-storage leukodepleted red cell concentrates – our experiences. *Abstract book. Istanbul 2003*; 48.
9. Urlep Šalinović V, Perbil Lazič K., Lokar L. Nadzor kakovosti eritrocitnih pripravkov v obdobju 2005-2007. *Zdrav Vestn* 2008; 77: 1-171–176.

IMPLEMENTACIJA AVTOMATIZIRANEGA TESTNEGA SISTEMA TESTIRANJA PIROGENOSTI V BOLNIŠNIČNI PROIZVODNJI PARENTERALNIH RAZTOPIN

THE IMPLEMENTATION OF THE AUTOMATIC TEST SYSTEM FOR PYROGENICITY TESTING IN HOSPITAL PARENTERAL PRODUCTION

AVTOR / AUTHOR:

Mateja Tršan¹, mag. farm.,
spec. iz preizkušanja zdravil
prof. dr. Stanko Srčič², mag. farm.

¹ Univerzitetni klinični center Ljubljana, Lekarna
Zaloška 7, 1000 Ljubljana

² Fakulteta za Farmacijo Univerze v Ljubljani
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
mateja.trsan@kclj.si

POVZETEK

Izdelava parenteralnih raztopin v bolnišničnem merilu pomeni znanstveni in strokovni izziv. Ker v bolnišnici izdelane proizvode potrebujemo hitro ali celo takoj in ker imajo tudi bistveno krajši čas stabilnosti kot industrijsko izdelani, je hitrost ugotavljanja skladnosti izdelanih proizvodov s farmakopejskimi zahtevami ključnega pomena. Sterilnost in apirogenost tako izdelanih končnih proizvodov zagotovimo le z validiranimi proizvodnimi procesi in striktno implementacijo dobre proizvodne prakse. V ta namen smo vpeljali in validirali hitri prenosni testni sistem, ki zagotavlja kvantitativne rezultate v 15 minutah. Kvantitativne rezultate dobimo z uporabo predhodno napolnjenih testnih ploščic za enkratno uporabo in ročnim spektrofotometrom. Ker je sistem prenosen, ga lahko uporabimo že na mestu vzorčenja.

KLJUČNE BESEDE:

parenteralne raztopine, (a)pirogenost, bakterijski endotoksini, endotoksinska meja

ABSTRACT

Production of parental solutions from the hospital's point of view means a scientific and professional challenge. The demand for the in-house parenteral products is high and requires a fast or even immediate response. These products have lower stability and shorter shelf life compared to industrial products. The products must comply with all pharmacopoeian standards. That can only be performed in the production process, which ensures sterility and apyrogenicity of the final parenteral products. However, it is achievable with validated, well-designed, and constantly controlled production process only. These processes must fully implement the principles of good manufacturing practices. In this regard, we have implemented and validated rapid point-of-use test system that provides quantitative results within 15 minutes. The test system (PTS) utilizes disposable cartridges that are pre-loaded with reagents and a portable and handheld reader to provide quantitative endotoxin amounts. Because of its portability, the PTS allows the testing to be performed at the point of sample collection.

KEY WORDS:

parenteral solutions, (a)pyrogenicity, bacterial endotoxins, endotoxin limit



1 UVOD

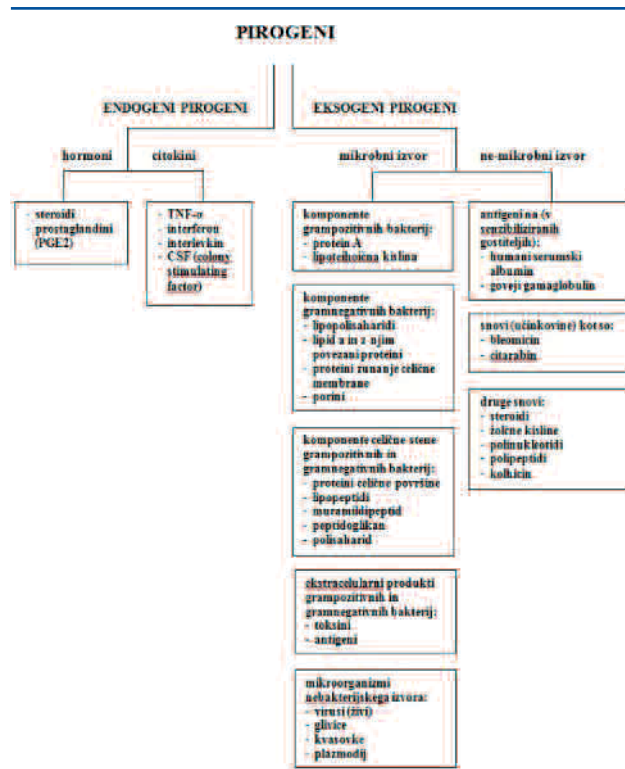
Parenteralne farmacevtske oblike so sterilne oblike za aplikacijo z injiciranjem, infundiranjem ali implantiranjem v človeško ali živalsko telo. Razlikujemo več vrst parenteralnih farmacevtskih oblik: injekcije, intravenske infuzije, koncentrate za pripravo raztopin za injiciranje ali intravensko infundiranje, praške za pripravo injekcij ali intravenskih infuzij in implantate. Izdelava sterilnih farmacevtskih proizvodov v bolnišničnem merilu pomeni izjemen znanstveni in strokovni izziv. V industrijskem merilu, kjer je proizvodnja sterilnih zdravil strogo kontrolirana in izvedena v optimalnih in validiranih okoljih, je praviloma vedno dovolj časa za izvedbo vseh končnih kontrol – med njimi tudi sterilnosti in apirogenosti, je pa možno tudi sproščanje na osnovi celotne dokumentacije proizvodnje (t. i. parametrično sproščanje) in ob pogoju, da je celoten postopek validiran. Danes moramo namreč testirati mikrobiološko kakovost oziroma sterilnost in apirogenost pri vseh parenteralnih izdelkih kot končnih farmacevtskih oblikah (1–3).

Ker v bolnišnici izdelane proizvode potrebujemo hitro (ali celo takoj) in ker imajo tudi bistveno krajši čas stabilnosti od industrijsko izdelanih, je hitrost ugotavljanja skladnosti z zahtevami ključnega pomena. Zato je uvedba avtomatizirane metode, ki omogoča hitro ugotavljanje kakovosti, izjemen prispevek h kakovosti in učinkovitosti procesa izdelave ter k varnosti izdelanih zdravil in posredno uporabnikov – pacientov.

Dolgotrajni končni testi za bolnišnično okolje niso optimalni, zato je toliko bolj pomembno zagotoviti absolutno optimalne pogoje izdelave. Končni cilj je kontrola oziroma testiranje vseh v proces vstopajočih snovi: sestavin izdelka (učinkovin, vode za injekcije, ostalih pomožnih snovi), procesne opreme (filtror, laboratorijskega materiala) ter ovojnine (zapiral, plastenek, stekleničk).

1.1. PIROGENOST IN PIROGENI

Pirogeni so snovi, ki, kadar pridejo v krvni obtok, v manjših koncentracijah povzročijo le dvig telesne temperature, pri večjih pa tudi povečajo prepustnost žilja, kar ima lahko za posledico šok ter nadalje smrt. Pirogeni aktivirajo tudi koagulacijski sistem, stimulirajo imunski sistem, povzročijo motnje metabolizma ogljikovih hidratov in maščob, povzročijo agregacijo trombocitov ter aktivacijo komplementa. Apirogenost pomeni odsotnost pirogenov (1).



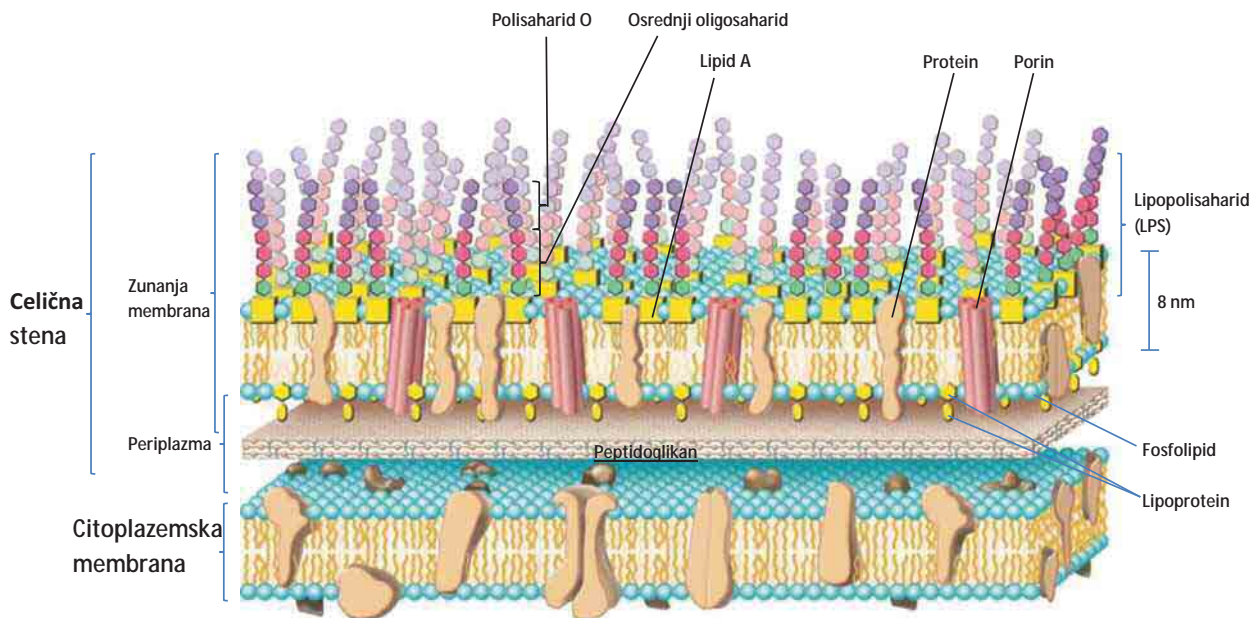
Slika 1: Razdelitev in izvor pirogenov (1).

Figure 1: Classification and origin of pyrogens (1).

Pirogene snovi splošno delimo na endogene in eksogene. Endogeni pirogeni so tisti, ki nastanejo v telesu pri vnetnih procesih, koagulaciji in pri zvišanju telesne temperature. Eksogeni pa ne nastajajo v telesu in ob vnosu vanj, na primer pri parenteralnem vnosu, infekciji, povzročijo zvišanje telesne temperature. Ti pirogeni so snovi bakterijskega, virusnega, glivičnega ali kemijskega izvora, kot je prikazano na sliki 1.

Najpogosteje dokazujemo prisotnost pirogenov, ki izhajajo iz po Gramu negativnih bakterij. Razlog je v tem, da so to v naravi pogoste, potencialno toksične ter zelo stabilne snovi in so zato problematične zlasti za tiste parenteralne farmacevtske oblike, kjer gre za direkten vnos v krvni obtok (4).

Po Gramu negativna bakterija je namreč pred vplivi okolja zaščitena z dvojno celično membrano. V njenem zunanjem sloju so lipopolisaharidi, ki skrbijo za strukturno integriteto bakterijske celice ter imajo fiziološko in imunološko vlogo ter vlogo pri transportu hranilnih snovi. Zato so ključnega pomena za njeno preživetje (1).



Slika 2: Prikaz bakterijske celične stene po Gramu negativne bakterije z lipopolisaharidnim endotoksinskim delom (5).
 Figure 2: Gram negative bacterial cell wall with the lipopolysaccharide endotoxine part (5).

Lipopolisaharidi, ki predstavljajo 45 % komponent zunanje membrane, se med bakterijami razlikujejo ter vplivajo na njihovo patogenost. Vsi lipopolisaharidi imajo enako osnovno zgradbo, in sicer je to lipid A, na katerega sta kovalentno vezana oligosaharidna sredica in polisaharidni O-antigen (slika 2). Kakšna bo aktivnost lipopolisaharida, pa je odvisno od strukture njegove molekule. Lipid A je tisti del lipopolisaharida, ki je odgovoren za njegovo biološko aktivnost (na priemer povišana telesna temperatura, povišano število levkocitov v krvi, intravaskularne koagulacije, nekroze) in je tudi tisti del molekule, ki se med bakterijami razlikuje. Zaradi tega se posledično razlikujejo tudi biološke aktivnosti lipopolisaharidov med bakterijami.

1.2. TESTIRANJE PIROGENOSTI

Trenutno veljavna izdaja Evropske farmakopeje predpisuje za testiranje pirogenosti tri metode: Pirogene snovi – *Pyrogens* (2.6.8), Bakterijski endotoksini – *Bacterial endotoxins* (2.6.14) in *Monocyte Activation Test* (2.6.30).

1.2.1. PIROGENE SNOVI

Test na pirogene snovi je *in vivo* test, pri katerem merimo dvig telesne temperature kuncev, ki ga povzroči intravenska aplikacija testirane raztopine. Ker se kunci na prisotne pirogene snovi odzovejo podobno kot ljudje, lahko s tem te-

stom dokazujemo prisotnost vseh vrst pirogenov (6). Izvedba testa, interpretacija rezultatov in pogoji za ponavljanje testa so opisani v splošni monografiji evropske farmakopeje (Ph. Eur.) v poglavju 2.6.8 *Pyrogens* (7). Priprava testne raztopine in testni odmerek učinkovine pa sta predpisana v posamezni monografiji učinkovine za farmacevtsko uporabo.

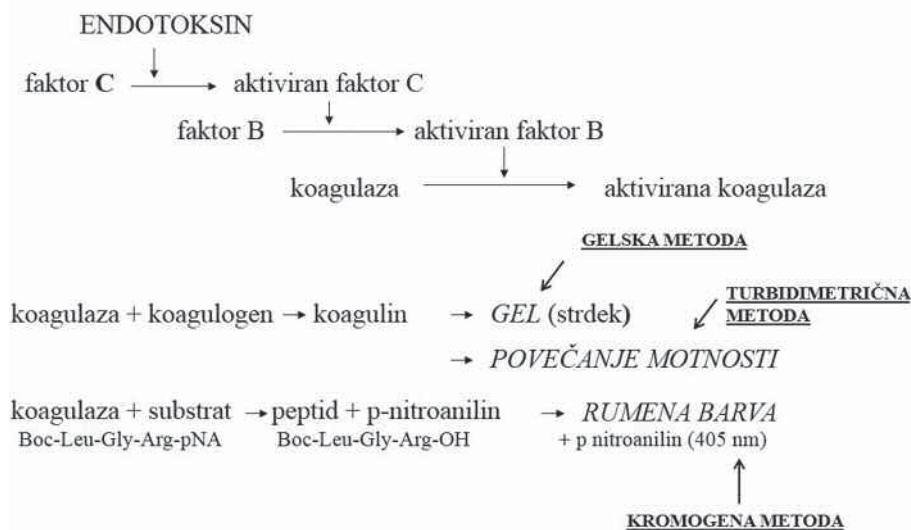
1.2.2. BAKTERIJSKI ENDOTOKSINI

Preskus na bakterijske endotoksine (BET, *bacterial endotoxins*) je *in vitro* test, s katerim dokazujemo le prisotnost bakterijskih endotoksinov, ne pa tudi ostalih pirogenov. Smernice za uporabo tega testa so podane v poglavju evropske farmakopeje 5.1.10 *Guidelines for using the test for bacterial endotoxins*. Evropska farmakopeja predpisuje tri različne tehnike, gelsko, turbidimetrično in kromogeno, za izvedbo testa pa 6 različnih metod:

- metoda A: gelska metoda – limitni test,
- metoda B: gelska metoda – semikvantitativni test,
- metoda C: turbidimetrična kinetična metoda,
- metoda D: kromogena kinetična metoda,
- metoda E: kromogena metoda končnih točk,
- metoda F: turbidimetrična metoda končnih točk (6–9).

Osnova omenjenih tehnik oziroma metod je zaporedje encimskih reakcij, ki se aktivirajo v prisotnosti bakterijskih endotoksinov (slika 3). Pri gelskih metodah je rezultat teh

Princip BET



Slika 3: Shematska predstavitev principov reakcij pri posameznih tehnikah BET (1).

Figure 3: Schematic representation of bacterial endotoxins test principles (1).

reakcij gel, pri turbidimetričnih metodah pa testne raztopine postanejo motne in rezultate zato določamo s fotometrijo. Pri kromogenih metodah merimo spremembo absorbance zaradi nastanka kromoforne spojine, ki obarva testno raztopino. Reagent za kromogeno metodo je sestavljen iz lizata krvnih celic podkvaste rakovice (*Limulus polyphemus*) in kromogenega substrata. Substrat je kratek peptid, ki ima z amidno vezjo vezan *para*-nitroanilin in je v segmentu, kjer koagulaza cepi peptidno vez, strukturno podoben molekuli koagulogena. Ob prisotnosti endotoksina koagulaza cepi vez v kromogenem substratu, zaradi česar se sprosti *para*-nitroanilin, ki zmes obarva rumeno. Fotometrično merimo porast absorbance zaradi sproščenega *para*-nitroanilina. Intenziteta nastale barve je sorazmerna količini endotoksinov v vzorcu.

1.2.3. TEST AKTIVACIJE MONOCITOV

Test aktivacije monocitov (MAT, *Monocyte Activation Test*) je *in vitro* test, s katerim detektiramo in določamo snovi, ki aktivirajo človeške monocite ter povzročijo sproščanje endogenih mediatorjev – proznetnih citokinov, kot so na primer dejavnik tumorske nekroze alfa (TNF α), interleukin-1 beta (IL-1 β) in interleukin-6 (IL-6). Osnovni princip je torej *in vitro* aktivacija človeških monocitov namesto živalskih. Monociti so lahko pridobljeni iz človeške krvi ali pa s pomočjo celične linije. S tem testom lahko določimo tudi vse vrste neendotoksinov, torej tistih, ki izvirajo iz po Gramu pozitivnih bakterij, gliv in virusov. Evropska farmakopeja predpisuje tri različne metode MAT:

- metoda A: kvantitativni test,
- metoda B: semikvantitativni test,
- metoda C: primerjalni test (10).

1.2.4. PRIMERJAVA METOD

Evropska farmakopeja navaja, da lahko izvedemo *in vivo* test na pirogene le v primeru, ko BET ali MAT ne moremo validirati. Metodo izberemo v odvisnosti od pričakovane vrste pirogenov v vzorcu. V primeru izbire BET moramo narediti še oceno tveganja zaradi možnosti, da so v vzorcu prisotni tudi neendotoksinov pirogeni. V primeru velikega tveganje ima prednost metoda MAT.

Pirogeni odziv v organizmu je odvisen od količine v telo vnesenih pirogenov na kilogram telesne mase, pri BET in MAT pa je reakcija povezana s koncentracijo endotoksinov oziroma kontaminantov v testni raztopini. Pri prvem testu je predpisan testni odmerek, na katerega se kunci ne smejo odzvati s pirogeno reakcijo, pri BET in MAT pa je predpisana endotoksinovska meja (EL, *Endotoxin Limit*) (8) oziroma mejna koncentracija kontaminanta (CLC, *Contaminant Limit Concentration*) (9). To sta maksimalni dovoljeni količini endotoksinov oziroma pirogenov v izdelku, ki ob aplikaciji največjega dovoljenega odmerka zdravila še ne bosta sprožili pirogene reakcije. EL je podana v mednarodnih oziroma endotoksinovskih enotah (tj. EU) na mililiter ali gram izdelka, CLC pa v endotoksinovskih ekvivalentih (tj. EEU). Meje so pogojene z mestom aplikacije in maksimalnim priporočljivim odmerkom učinkovine.

Preglednica 1: Primerjava metod za testiranje pirogenosti.

Table 1: Comparison of methods for pyrogen testing.

	Pirogeni test Ph. Eur.: 2.6.8	BET Ph. Eur.: 2.6.14	MAT Ph. Eur.: 2.6.30
Testni sistem	<i>In vivo</i> Kunec	<i>Ex vivo/in vitro</i> Podkvasta rakovica	<i>Ex vivo/in vitro</i> Človeška kri, celična linija
Tip	Limitni test	Limitni test Kvantitativni test	Limitni test Kvantitativni test
Specifičnost	Vsi pirogeni	Endotoksini	Vsi pirogeni
Meja detekcije	5 EU/kg	0,005 EU/ml	0,04 EU/ml
Uporabnost	Farmacevtski izdelki Biološka zdravila Medicinski pripomočki	Farmacevtski izdelki Biološka zdravila (omejitve) Krvni preparati (omejitve) Medicinski pripomočki	Farmacevtski izdelki Biološka zdravila Krvni preparati Medicinski pripomočki

Kvantitativne metode imajo prednost zlasti pri kontroli kakovosti vhodnih surovin in vode ter v medprocesnih kontrolah, kjer je zaželeno rezultate kvantificirati. Večinoma omogočajo tudi avtomatizacijo in izpise ter obdelavo rezultatov v elektronski obliki (1). Praviloma so bolj občutljive, kar nam daje več možnosti pri pripravi vzorca. Z redčenjem vzorcev namreč zmanjšamo vpliv vzorca na potek encimske reakcije pri testu (8). Imajo pa tudi pomanjkljivosti, ker lahko reakcijo zavirajo podobni dejavniki kot pri gelski metodi. Pri fotometričnih metodah se lahko pojavijo še dodatni moteči dejavniki: pri turbidimetrični kinetični metodi reakcijo motijo motni vzorci, kot so emulzije in vzorci z velikimi koncentracijami proteinov, kjer molekule agregirajo. Pri kromogeni metodi, kjer spremljamo spremembo intenzitete barve, pa izvedbo testa motijo obarvani vzorci (8, 11).

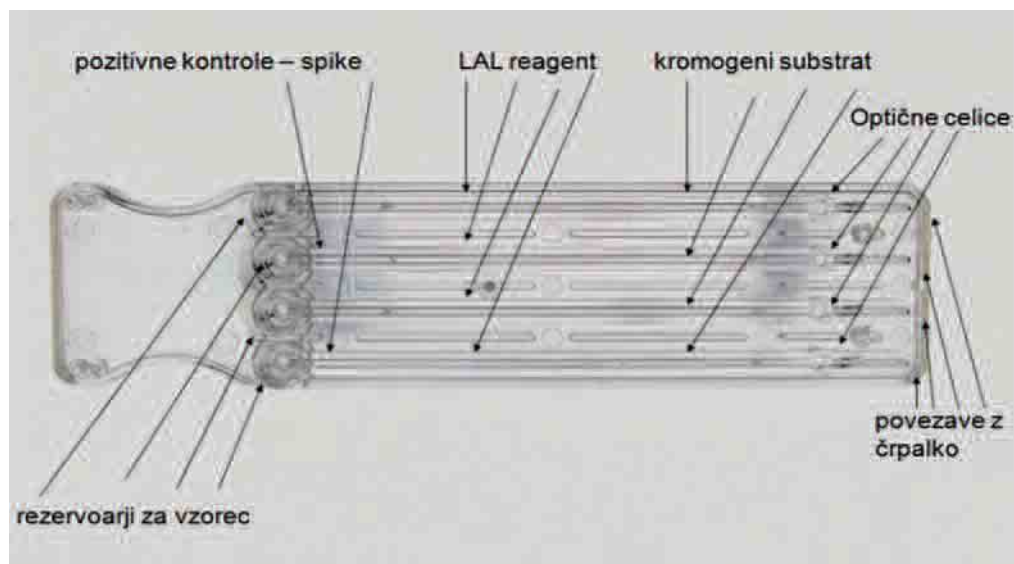
2 NAMEN

Namen našega raziskovalnega dela je bil poiskati, optimizirati, validirati in implementirati za naše specifične razmere oziroma potrebe najprimernejšo metodo za testiranje apirogenosti parenteralnih galenskih izdelkov v Lekarni Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana (UKC Lj). Pri trenutni bolnišnični proizvodnji je zaradi izredno velikega števila

majhnih serij različnih izdelkov tudi veliko omejitvenih dejavnikov. Najpomembnejši je časovni dejavnik, ker se morajo izdelki zaradi kratkih rokov uporabnosti pogosto sprostiti v uporabo že pred pridobitvijo vseh za sproščanje potrebnih rezultatov, ko gre za implementacijo klasičnih izvedb. Enako velja tudi za alternativno pošiljanje vzorcev k zunanjim pogodbenim laboratorijem. Dodatno omejujoči dejavnik je omejenost z ustreznimi prostorskimi in človeškimi kapacitetami. Klasične izvedbe določanja bakterijskih endotoksinov namreč zahtevajo izvedbo v čistih prostorih v komorah z laminarnim pretokom zraka, teh pa v bolnišnični lekarni ni dovolj.

3 MATERIALI IN METODE

Osnova uporabljene metode je kromogena kinetična metoda. Avtomatizirani testni sistem (ENDOSAFE®-PTS™, Charles River Laboratories, Francija) sestavljajo prenosni instrument z inkubirano črpalko, spektrofotometrom in integriranim programom za izračun in shranjevanje podatkov. Aparatura je oblikovana tako, da zadosti farmakopejskim predpisom za kromogeno kinetično metodo oziroma za fotometrične metode (2.6.14. *Bacterial Endotoxins*). Za izvedbo testa uporabljamo testne ploščice, ki imajo nanese



Slika 4: Zgradba testne ploščice – Cartridge ENDOSAFE®-PTS™ (10).
Figure 4: Test Cartridge scheme (10).

vse potrebne reagente v suhi obliki. Vsaka ploščica (PTS Cartridges: FDA 0,005 EU/ml k.š.PTS20005F, PTS Cartridges FDA 0,01 EU/ml k.š.PTS2001F, PTS Cartridges FDA 0,05 EU/ml; k.š.PTS2005F PTS Cartridges FDA 0,1 EU/ml; k.š.PTS201F Charles River Laboratories) že vsebuje določeno količino reagenta LAL (*Limulus Amebocyte Ly-sate*), kromogeni substrat ter kontrolni endotoksinski standard. Ploščica ima štiri mesta (*sample channels*) za vzorec in dve mesti za pozitivno kontrolo (*spike channels*) (slika 4).

Test izvedemo z nanosom vzorca v vsa štiri vzorčna mesta. Vzorec nato črpalka potegne v testne kanalčke. V prvih štirih minutah testa pride na ploščici do inkubacije vzorca z reagentom LAL in kromogenim substratom, nato pa merimo intenziteto nastale barve oziroma porast absorbance (pri 385–410 nm) zaradi sproščenega rumenega *para*-nitroanilina. S pomočjo integriranega programa na osnovi arhivirane umeritvene krivulje kvantitativno določimo vsebnost endotoksinov v vzorcu. Ploščica je oblikovana tako, da istočasno avtomatsko izvedemo dvojno pozitivno kontrolo. Pozitivno kontrolo izvedemo zato, da dokažemo, da sam vzorec ne vpliva na reakcijo.

Validacijo metode za določen izdelek izvedemo s testom zaviranja in pospeševanja na treh serijah, s čimer dokažemo, da izdelek oziroma sestavine ne vplivajo na encimsko reakcijo. Slednje dejansko pomeni, da moramo pri pozitivni kontroli, kjer določamo vsebnost endotoksinskega standarda, kljub prisotnosti testnega vzorca, določiti med 50 in 200 % deklarirane vrednosti standarda.

Obdelava rezultatov je avtomatizirana, čitalec PTS™ meri reakcijski čas v vsakem kanalu ploščice posebej. Za vsako serijo ploščic je določena umeritvena krivulja, ki v danem območju prikazuje korelacijo med logaritmom reakcijskega časa in logaritmom koncentracije endotoksinskega standarda. Rezultate dobimo z interpolacijo standardne krivulje z uporabo reakcijskega časa.

Ostala uporabljena oprema in materiali za izvedbo testiranja so mešalo z nastavkom za epruvete »vortex« (IKA® MS 3 basic), pH-ionometer (Mettler Toledo SevenExcellence™ pH/Conductivity meter), polavtomatska pipeta Multipette® plus (Eppendorf), apirogeni pipetni nastavki Combitips Biopur 1,0 ml in 0,5 ml (Eppendorf), apirogena in sterilna epruveta 13 × 100 (Charles River Laboratories, ZDA), apirogena prečiščena voda (LAL Reagent Water; Charles River Laboratories, ZDA) in Parafilm M (Pechiney, ZDA).

Za začetno testiranje smo uporabili parenteralne izdelke našega galenskega laboratorija, kjer smo pričakovali enostaven prehod na nov način testiranja glede na prej izvajani test pri pogodbenem izvajalcu. To so hkrati tudi v laboratoriju najpogosteje izdelane sterilne parenteralne raztopine: redestilirana voda, 5-odstotna glukoza, 0,9-odstotni NaCl, 5-odstotna glukoza v 0,9-odstotnem NaCl, 5-odstotna glukoza v ¼ Ringerjevi raztopini, Ringerjeva raztopina, 1 M kalijev klorid, 1 M kalijev fosfat, 1 M kalcijev klorid in 1 M magnezijev sulfat. Ker so ti izdelki standardne parenteralne raztopine, smo imeli predhodno že določeno oziroma izračunano endotoksinsko mejo (EL). Najprej smo glede na

EL določili maksimalno razredčitev vzorca, pri kateri še lahko pri ploščici določene občutljivosti dobimo veljaven rezultat. Če smo želeli, na primer pri izdelku z $EL \leq 0,250$ EU/ml z namenom zmanjšanja vpliva vzorca na test, vzorec redčiti 1 : 100, smo morali uporabiti ploščico z občutljivostjo vsaj 0,001 EU/ml. Če bi uporabili testno ploščico z manjšo občutljivostjo, na primer le do 0,01 EU/ml, bi ob upoštevanju redčitve dobili rezultat, da je v vzorcu ≤ 1 EU/ml, kar pa je več od predpisane EL. Po določitvi maksimalno veljavne razredčitve vzorcev (MVD, *Maximum Valid Dilution*) smo za posamezen izdelek predpisali testne ploščice primerne občutljivosti. Testni postopek smo najprej preizkusili na izdelkih direktno, brez redčenja, vendar smo zadovoljive rezultate dobili le pri redestilirani vodi in fiziološki raztopini. Z redčenjem namreč najenostavneje zmanjšamo vpliv sestavin preiskovanega vzorca in dosežemo vrednosti pozitivnih kontrol blizu 100 % deklarirane vrednosti standarda. Če je vrednost pozitivne kontrole (*spike recovery*) manjša kot 100 % vrednosti, pomeni, da sestavine vzorca reakcijo zavirajo oziroma pri reakciji ne določimo celotne količine prisotnega kontrolnega standarda. Če so vrednosti večje od 100 % vrednosti standarda, pomeni, da sestavine izdelka reakcijo lažno povečajo.

Za mešanice raztopin glukoze je bilo za doseganje zadovoljivih rezultatov primerno redčenje 1 : 5, pri koncentriranih elektrolitskih raztopinah pa je bilo potrebno večje, in sicer od 1 : 20 do 1 : 400.

Na podlagi originalnih navodil proizvajalca (1), Evropske farmakopeje (7, 8) in drugih priporočil oziroma smernic (10–12) smo pripravili navodila za kvalifikacijo analitika, kalibracijo aparature in validacijo postopka. Postopek smo nato za vsak galenski izdelek validirali na treh serijah (preglednica 2).

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

V obdobju štirih let (od 1. 1. 2011 do 31. 12. 2014) smo analizirali več kot 2895 serij oziroma 8685 vzorcev parenteralnih galenskih izdelkov. Testirali smo 133 različnih parenteralnih galenskih izdelkov ter razvili in validirali 33 analizi postopkov, ki smo jih nato ob upoštevanju različnih vsebnosti sestavin v izdelku še dodatno prilagodili posameznim izdelkom. Prilagodili smo na primer redčenje vzorca

in izbiro občutljivosti testne ploščice. Del postopkov prikazuje preglednica 2.

Preglednica vsebuje v prvem stolpcu ime izdelka, v naslednjih stolpcih pa predpis za pripravo vzorca in redčenje, podatke o optimalni testni ploščici (Cartridge), pričakovani rezultat za priporočeno redčitev in testno ploščico, MVD za posamezne testne ploščice in EL za posamezen izdelek. Za večino izdelkov so bile EL že predpisane, v primeru novega izdelka pa smo jo morali najprej določiti. Če so bile meje za vsebnost bakterijskih endotoksinov predpisane v farmakopejski monografiji uporabljene učinkovine oziroma snovi za farmacevtsko uporabo, smo lahko EL za končni izdelek določili glede na vsebnost te substance v izdelku. V primeru nove učinkovine oziroma če v monografiji meja ni bila predpisana, pa smo EL za končni izdelek določili s pomočjo podatkov o največjem sprejemljivem odmerku endotoksina na kilogram telesne mase, ki jo bolnik lahko sprejme brez neželenih posledic. Dovoljena meja je odvisna od načina aplikacije ter vrednosti maksimalnega priporočljivega odmerka zdravila na kilogram telesne mase na uro (8).

Test smo vedno izvedli na treh vzorcih oziroma enotah iste serije. Prvi vzorec smo vzeli na začetku, drugega na sredini in tretjega na konca faze polnjenja serije izdelka. Na začetku smo vzorce pripravljali tako, da smo vse tri vzorce iste serije najprej združili v tako imenovani zbirni vzorec (*pool*) in jih v nadaljevanju testirali skupaj, nato pa smo postopek poenostavili in pripravo zbirnega vzorca in prve razredčitve združili v en korak. To pomeni, da nismo združili celotne vsebine treh embalažnih enot, ampak smo iz posamezne enote odvzeli in združili le v postopku predpisano količino vzorca iz posamezne steklenice in ji dodali ustrezno količino vode (preglednica 2). Redčenje smo izvajali postopoma s koraki 1 : 10. Večinoma so zadostovali trije koraki, razen pri polproizvodu žveplova(VI) kislina (0,1 M), kjer smo potrebovali skupno 5 korakov.

Za biološke metode velja farmakopejski predpis, da mora biti variabilnost vzorca in endotoksinskega standarda manjša od 25 % ter vrednost pozitivne kontrole med 50 in 200 % deklarirane vrednosti. Za naše ciljne vrednosti smo si postavili strožje meje, in sicer morata biti variabilnost paralelnih meritev vzorca (Sample Rxn Time CV) in variabilnost pozitivnih kontrol (Spike RxnTime CV) znotraj 5 % ter da mora biti vrednost pozitivne kontrole (Spike Recovery) med 75 in 125 % deklarirane vrednosti standarda. Rezultati so prikazani v preglednici 3.



Preglednica 2: Del preglednice analitičnih postopkov s ključnimi podatki za izvedbo testa.
 Table 2: Part of the spreadsheet analytical processes with the key information for the test.

IZDELEK	Priprava vzorcev in redčitve od I. do V.		Redčitev za vpis v PTS	Testna ploščica	Pričakovani rezultat (za izbrano redčitev in ploščico)	MVD za ploščico 0,005	MVD za ploščico 0,01	MVD za ploščico 0,05	MVD za ploščico 0,1	EL
	I (1 : 5)	II (1 : 10)								
Intraokularna raztopina	3 x 0,2 ml vz + 2,4 ml vode		5	0,05	0,25	50	25	5	2,5	0,25 EU/ml
Kalcijev klorid 1 M	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 100) 0,5 ml + 4,5 ml	400	0,01	4	5880	2940	588	294	29,4 EU/ml = 0,2 EU/mg
Kalcijev klorid 10 % (0,68 M)	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 100) 0,5 ml + 4,5 ml	400	0,05	20	4000	2000	400	200	20 EU/ml = 0,2 EU/mg
Kalijev fosfat 1 M	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 100) 0,5 ml + 4,5 ml	100	0,05	5	21120	10560	2112	1056	105,6 EU/ml = 1,1 EU/mg
Kalijev fosfat 1 M 40 ml, NaCl 0,9 % 60 ml	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 40) 1 ml + 3 ml	40	0,005	0,2	500	250	50	25	0,25 EU/ml
Kalijev klorid 1 M	0,5 % 3 x 0,1 ml vz + 4,2 ml vode	I (1 : 10) 0,5 ml + 4,5 ml	20	0,05	1	600	300	60	30	3,0 EU/ml (0,5 % razt)
Kalijev klorid 1 M 40 ml, NaCl 0,9 % 60 ml	I (1 : 10) 3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 50) 1 ml + 4 ml	50	0,005	0,25	50	25	5	2,5	0,25 EU/ml
Kalijev klorid 2 M	0,5 % 3 x 0,05 ml vz + 4,35 ml	I (1 : 10) 0,5 ml + 4,5 ml	20	0,05	1	600	300	60	30	3,0 EU/ml (0,5 % razt)
Kalijev klorid 3 %	0,5% 3 x 0,2 ml + 3,0 ml vode	I (1 : 10) 0,5 ml + 4,5 ml	20	0,05	1	600	300	60	30	3,0 EU/ml (0,5 % razt)
Kardiopegika koncentrat	I (1 : 5) 3 x 0,2 ml vz + 2,4 ml vode		5	0,01	0,05	50	25	5	2,5	0,25 EU/ml
Lidokainijev klorid 0,66 %	I (1 : 10) 3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 70) 0,5 ml + 3,0 ml	70	0,01	0,7	1450	726	145	72,6	7,26 EU/ml = 1,1 EU/mg

IZDELEK	Priprava vzorcev in redčitve od I. do V.				Redčitev za vpis v PTS	Testna ploščica	Pričakovani rezultat (za izbrano redčitev in ploščico)	MVD za ploščico 0,005	MVD za ploščico 0,01	MVD za ploščico 0,05	MVD za ploščico 0,1	EL
	I (1 : 5)	II (1 : 50)	III (1 : 100)	IV (1 : 1000)								
Lidokainijev klorid 1 %	3 x 0,2 ml vz + 2,4 ml vode	II (1 : 50) 0,4 ml I +3,6 ml			50	0,05	2,5	2200	1100	220	110	11 EU/ml = 1,1 EU/mg
Lidokainijev klorid 2 %	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 100) 0,5 ml I +4,5 ml			100	0,05	5	4400	2200	440	220	22 EU/ml = 1,1 EU/mg
Lidokainijev klorid 4 %	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 100) 0,5 ml I +4,5 ml	III (1 : 200) 2 ml II+2 ml		200	0,05	10	8800	4400	880	440	44 EU/ml = 1,1 EU/mg
Lidokainijev klorid 10 %	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 50) 0,4 ml I +3,6 ml	III (1 : 400) 1 ml II +3 ml		400	0,05	20	22000	1100	2200	110	110 EU/ml = 1,1 EU/mg
Magnezijev klorid 0,2 M	3 x 0,2 ml vz + 2,4 ml vode				10	0,005	0,05	10	5	1	/	0,057 EU/ml = 3 EU/g
Magnezijev klorid 1 M	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 25) 2 ml I +3 ml			25	0,01	0,25	50	20	5	2	0,2856 EU/ml = 3 EU/g
Magnezijev sulfat 1 M	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 100) 0,5 ml I+4,5ml	III (1 : 200) 2 ml II +2 ml		200	0,05	10	4420	2210	442	221	22,5 EU/ml = 0,09EU/mg
Magnezijev sulfat 2 M	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1 : 100) 0,5 ml I+4,5ml	III (1 : 400) 1 ml II +3 ml		400	0,05	20	4000	2000	400	/	45 EU/ml = 0,09EU/mg
Manitol 10 %	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode	II (1:20) 2 ml I+2ml			20	0,01	0,2	80	40	8	4	0,4 EU/ml = 4 EU/g
Manitol 20 %	3 x 1 ml vz + 3ml ml vode	II (1 : 20) 0,3 ml I +2,7 ml			20	0,01	0,2	160	80	16	8	0,8 EU/ml = 4 EU/g
Žveplova(VI) kislina 0,1 M	3 x 0,1 ml vz + 2,7 ml vode II (1 : 100) 0,5 ml I+4,5 ml vode	III (1 : 1000) 0,5 ml II+4,5ml IV (1 : 10000) 0,5 ml III+4,5 ml	V (1 : 40000) 1 ml IV+3 ml		40000	0,05	2000	-	-	186660	/	9333 EU/ml

Preglednica 3: Preglednica vseh testiranih vzorcev v Lekarni UKC LJ v obdobju 1. 1. 2011 do 31. 12. 2014.

Table 3: Table of all tested samples in the UKC Pharmacy during the period 1. 1. 2011 to 31. 12. 2014.

Vzorec	Število serij	Uporabljene redčitve	Spike Rxn Time CV [%]	Spike Recovery [%]	Sample Rxn Time CV [%]	Rezultati	EL za izdelke [EU/ml]	Predpis za substanco in/ali izdelek (Ph. Eur, USP, interno)
GLUKOZA Z ELEKTROLITI	757	1 : 5-1 : 10	4,15	91,46	4,36	< 0,025 – < 0,250	0,025 - 0,25	0,25 EU/ml (5-odstotna razt.)
REDESTILIRANA VODA	615	1	3,86	96,22	7,88	< 0,005 – < 0,050	0,05	0,25 EU/ml; 0,05 EU/ml (voda LAL)
NATRIJEV KLORID 0.9%	390	1	3,54	84,82	/	< 0,050 – < 0,100	0,25	0,25 EU/ml
NATRIJEV CITRAT	268	1 : 40-1 : 300	4,21	93,79	11,67	< 0,400 – < 3,00	5,6	5,60 EU/ml
LIDOKAINIJEV KLORID	112	1 : 70-1 : 400	5,00	95,55	9,70	< 0,700 – < 5,00	7,26 - 110	1,10 EU/mg
KALCIJEV KLORID	104	1 : 400	2,70	84,36	/	< 4,00 – < 20,0	20 -29,4	0,20 EU/mg
NATRIJEV KLORID; koncentri	95	1	3,62	86,89	/	< 0,100	0,25	0,25 EU/ml (0,9-odstotna razt)
GLUKOZA	90	1 : 5	4,39	87,73	14,30	< 0,025 – < 0,250	0,025 - 0,25	0,25 EU/ml (5-odstotna razt)
MANITOL	54	1 : 20	4,30	89,71	3,55	< 0,200	0,4 - 0,8	4 EU/g
KALCIJEV KLORID	53	1 : 20-1 : 50	3,26	97,40	1,60	< 0,250 – < 1,00	0,25 - 3,0	3 EU/ml (0,5-odstotna razt)
KALCIJEV FOSFAT	43	1 : 40-1 : 100	4,27	82,58	2,40	< 0,200 – < 5,00	0,25 -105,6	1,10 EU/mg
NATRIJEV HEPARINAT	40	1-1 : 10	3,81	110,08	0,93	< 0,010	0,25	0,25 EU/ml
INTRAOKULARNA RAZTOPINA	40	1 : 5	4,41	94,98	7,90	< 0,050	0,05	0,25 EU/ml
MAGNEZIJEV SULFAT	36	1 : 200-1 : 400	3,47	98,24	/	< 10,0 – < 20,0	22,5 - 45,0	0,09 EU/mg
NATRIJEV TIOSULFAT	30	1 : 4	2,87	84,85	/	< 0,400	3 - 7,5	0,03 EU/mg
RINGER LAKTAT V 5-odstotnem SORBITOLU	24	1 : 5	5,83	93,88	/	< 0,250	0,25	0,25 EU/ml
ARGININIJEV KLORID	20	1 : 20-1 : 100	5,47	73,54	/	< 0,200 – < 2,00	1 - 3,00	0,01 EU/mg

Vzorec	Število serij	Uporabljene redčitve	Spike Rxn Time CV [%]	Spike Recovery [%]	Sample Rxn Time CV [%]	Rezultati	EL za izdelke [EU/ml]	Preddis za substanco in/ali izdelek (Ph. Eur, USP, interno)
MAGNEZIJEV KLORID	20	1 : 5-1 : 25	4,26	89,89	2,67	< 0,025 – <0,250	0,057 - 0,286	3 EU/g
FENILEFRINIJEV KLORID	18	1 : 100	4,71	89,28	/	< 1,00	2,5	25 EU/mg
KARDIOPLEGIKA koncentrat	15	1 : 5	5,41	98,73	/	< 0,050	0,25	0,25 EU/ml
NATRIJEV HIDROGENKARBONAT	13	1 : 20-1 : 40	3,94	93,20	/	< 0,200 – < 0,400	2,5 - 5	5 EU/mEq
NATRIJEV BENZOAT	11	1 : 200-1 : 400	4,54	78,38	14,10	< 2,00	2,5	0,01 EU/mg
EFEDRINIJEV KLORID	10	1 : 100	3,23	92,00	/	< 1,00	8,5 - 85	1,70 EU/mg
PROKAINIJEV KLORID	9	1 : 40	4,93	85,96	/	< 0,400	1,64 - 6	0,60 EU/mg
NATRIJEV ACETAT	7	1 : 40	5,03	85,57	/	< 0,400	3,9	3,90 EU/mEq
KLONIDINIJEV KLORID	4	1-1 : 5	5,43	85,75	/	< 0,005 – < 0,025	3,3	3,30 EU/ml
METOKSALEN	4	1 : 20	2,20	74,25	/	< 0,200	1	1 EU/ml
ARZENOV TRIOKSID	4	1	3,53	78,75	/	< 0,005	33,3	33,30 EU/mg
NATRIJEV KALCIJEV EDETAT	4	1 : 200	3,48	122,25	6,20	< 1,00	2	2 EU/ml
FENTANILIJEV CITRAT	2	1	1,65	81,00	/	< 0,010	2,5	50 EU/mg
MIDAZOLAMIJEV KLORID	1	1 : 100	5,60	76,00	/	< 0,500	1,786	1,786 EU/ml
RINGER	1	1 : 5	3,80	98,00	/	< 0,250	0,25	0,25 EU/ml
PAPAVERINIJEV KLORID	1	1 : 1000	1,30	107,00	/	< 5,00	116	2,90 EU/mg
skup/povprečno	2895		4,01	90,37	6,71			



Znotraj 75 % vseh proizvedenih in testiranih serij je bilo največ različnih mešanic glukoze in elektrolitov (26,2 %), vode za injekcije (21,2 %), fizioloških raztopin različnih volumnov (13,5 %), raztopin natrijevega citrata (9,3 %) in raztopin različnih koncentracij lidokainijevega klorida (3,9 %). Pri vseh omenjenih vzorcih smo imeli majhno variabilnost paralelnih vzorcev (povprečno 6,7 %) in zelo dobro vrednost pozitivne kontrole – *spike recovery* (84,82–95,55 %) (preglednica 3). Majhna variabilnost vzorcev je posledica tega, da so bile vse vrednosti koncentracije endotoksinov pod endotoksinsko mejo in tudi pod mejo detekcije uporabljene testne ploščice.

V primeru dobljenih manjših vrednosti pozitivnih kontrol (*spike recovery* manj kot 50 %) smo test ponovili pri večji razredčitvi vzorca (ki pa je morala biti manjša od MVD) in/ali z uporabo testne ploščice z večjo občutljivostjo. V večini primerov smo dobili vrednosti znotraj ciljnih vrednosti (75–125 %). Pri uvajanju metode smo bili v začetni fazi omejeni z izbiro testnih ploščic, ker so bile na tržišču komercialno dostopne le ploščice za območji 5–0,05 EU/ml in 10–0,1 EU/ml.

To nas je omejevalo, ko smo želeli uporabiti večjo redčitev. MVD je namreč odvisna od občutljivosti ploščice oziroma koncentracijskega območja endotoksinskega standarda pri umeritvenih premicah. Večje redčitve so namreč najlažji način za nevtralizacijo motečih dejavnikov, ki bi lahko vplivali na potek reakcije. Izdelkom, pri katerih pri testiranju kljub maksimalnim redčitvam nismo dosegli ustreznih vrednosti pozitivnih kontrol, nismo mogli razviti analiznega postopka oziroma določiti vsebnosti bakterijskih endotoksinov. Zato smo jih morali testirati na klasični način v pogodbenem laboratoriju. To je bilo zamudnejše in povezano z dodatnimi stroški, kar za nas kot izdelovalca parenteralnih izdelkov ni bilo sprejemljivo.

Z dostopnostjo občutljivejših ploščic (1–0,01 EU/ml in 0,5–0,005 EU/ml) smo zaradi možnosti 50–100-krat večjega redčenja uspešno razvili še postopke za večino preostalih izdelkov in tako postali skoraj popolnoma avtonomni pri hitri kontroli pirogenov v vseh naših proizvodih.

Začetno kvalifikacijo, ki je nujna za potrditev občutljivosti reagenta LAL oziroma linearnosti odziva ter vrednotenje laboratorija in analitika, smo izvajali enkrat letno. Enako smo naredili tudi pri vsaki novi seriji testnih ploščic ali pa po šestih mesecih uporabe testne ploščice z isto serijsko številko (11-14).

Trenutno sami še ne moremo testirati vzorcev, za katere ni primeren sam princip uporabljene metode. Kromogene kinetične metode zaradi obarvanosti vzorcev ne moremo uporabiti na primer pri raztopini natrijevega fluoresceinata ali metilenskega modrila ter zaradi neprimerne pH vrednosti pri raztopinah z izrazito majhno ali veliko vrednostjo pH.

Do jeseni leta 2010, ko še nismo imeli vzpostavljenih pogojev za samostojno testiranje, smo pogodbenim laboratorijem pošiljali na testiranje vse serije proizvedenih izdelkov. Delež v analizo poslanih serij se je od leta 2011 do 2014 postopno zmanjševal, in sicer na račun razvoja in postopne validacije novih analiznih postopkov ter kasneje tudi zaradi dostopnosti občutljivejših testnih ploščic. V letu 2014 je znašal pogodbeni del analiz le še 3,69 % (33 od skupno 894 vzorcev). Z uvedbo opisane metode smo dosegli, da smo v vseh štirih letih v pogodbenih laboratorijih testirali le še 7,63 % vseh proizvedenih serij, to je 239 serij od skupno 3134 serij (preglednica 4).

Preglednica 4: Pregled števila vzorcev, analiziranih v Lekarni UKC Lj in pogodbeno, po posameznih letih med 2010–2014.

Table 4: Number of analysed samples in house and in contract labs through the years 2010–2014.

Leto	UKC Lj		Pogodba		Skupaj
2010		0,00 %		100,00 %	
2011	688	85,15 %	120	14,85 %	808
2012	682	93,30 %	49	6,70 %	731
2013	664	94,72 %	37	5,28 %	701
2014	861	96,31 %	33	3,69 %	894
Skupaj	2895	92,37 %	239	7,63 %	3134

5 ZAKLJUČEK

Na osnovi literaturnih podatkov in posvetovanja s strokovnjaki na področju testiranja bakterijskih endotoksinov smo se v Lekarni UKC Lj odločili za uvedbo testiranja s sistemom Endosafe® PTS. Testiranje naj bi postalo sestavni del rednih analiz za sproščanje v uporabo vseh serij parenteralnih izdelkov Lekarne UKC Lj. Uvedba testiranja pri-

sotnosti bakterijskih endotoksinov pomeni veliko časovno in finančno racionalizacijo tovrstnega testiranja.

Nove metode, ki omogočajo hitro ugotavljanje in zagotavljanje mikrobiološke kakovosti samih izdelkov in okolja izdelave, predstavljajo izjemen prispevek h kakovosti in učinkovitosti procesa izdelave, kakovosti pripravljenih zdravil in seveda varnosti in učinkovitosti pri uporabnikih – bolnikih.

Prednosti sistema PTS™ so, da za izvedbo testa niso potrebni kontrolirani pogoji niti priprava endotoksinških standardov in umerjanja, da je izvedba relativno enostavna in rezultati dosegljivi v 15-ih minutah. Vse to predstavlja učinkovito orodje kontrole tveganja in močno skrajša fazo kontrole pogojev izdelave in končnega produkta ter tako zagotavlja veliko učinkovitost in izboljššan sistem vodenja kakovosti tako izdelkov kot proizvodnih procesov.

6 LITERATURA

1. Tršan M: *Dobra proizvodna praksa sterilnih izdelkov v bolnišnični lekarni s poudarkom na testiranju bakterijskih endotoksinov. Lekarniška zbornica Slovenije, Specialistična naloga*; 2010.
2. Prince R: *Microbiology in Pharmaceutical Manufacturing, Second Edition, Revised and Expanded, Volume I and II, PDA*, 2008.
3. Akers MJ, Larrimore DS. *Parenteral Quality Control: Sterility, Pyrogen, Particulate and Package Integrity Testing, 3th Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker Inc.*; 2003.
4. Williams KL. *Endotoxins, 3th Edition, Informa Healthcare USA*, 2007.
5. Podričnik S. *Cianotiofenski zaviralci lize murf kot potencialne protibakterijske učinkovine. Fakulteta za Farmacijo, Diplomaska naloga*; 2014.
6. Škof A, Kržič M, Grosman P, Hes S. *Bakterijski endotoksini in pirogeni z vidika kakovosti in varnosti zdravil za parenteralno uporabo. Formularium Slovenicum s 6. dopolnilom (strokovno posvetovanje). Zavod za farmacijo in preizkušanje zdravil*; 2004: 21–32.
7. 2.6.8. *Pyrogens, In: European Pharmacopeia, 8th edition, Council of Europe*; 2015.
8. 2.6.14. *Bacterial Endotoxins. In: European Pharmacopeia, 8th edition. Council of Europe*; 2015.
9. 5.1.10 *Guidelines for using the test for bacterial endotoxins. In: European Pharmacopeia, 8th edition. Council of Europe*; 2015.
10. 2.6.30 *Monocyte Activation Test. In: European Pharmacopeia, 8th edition. Council of Europe*; 2015.
11. Easter MC. *Rapid Microbiological Methods in the Pharmaceutical Industry. CRC Press*; 2003.
12. *The Endosafe - PTS™ ® Portable Test System User's Guide Version 7* <http://www.criver.com/>. Dostop: 01-05-2015.
13. *Guideline on validation of the LAL test as an End-product Endotoxin Test for Human and Animal Parenteral Drugs, Biological Products and Medical Devices, U. S. Department of Health and Human Services, http://gmp.pharmout.net/view_pdf.php?file=ucm070286-1987-12-00.pdf. Dostop 01.05.2015.*
14. Charles River. *Endosafe®-PTS and Regulatory Requirements, Technical Sheet. http://www.criver.com/files/pdfs/emd/endotoxin/endosafe-pts-and-regulatory-requirements.aspx. Dostop:01-05-2015.*



KRATEK OPIS NEVROMODULATORNEGA ZDRAVLJENJA VZTRAJAJOČE BOLEČINE PO OPERACIJI LEDVENE HRBTENICE

NEUROMODULATORY TREATMENT OF FAILED BACK SURGERY SYNDROME IN BRIEF

AVTOR / AUTHOR:

Tomaž Velnar¹, Marjan Zaletel²,
Tadej Strojnik³

¹Tomaž Velnar, Klinika za nevrokirurgijo,
Univerzitetni klinični center Ljubljana

²Marjan Zaletel, Nevrološka klinika,
Univerzitetni klinični center Ljubljana

³Tadej Strojnik, Oddelek za nevrokirurgijo,
Univerzitetni klinični center Maribor

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

Dr. Tomaž Velnar, dr. med.,
Klinika za nevrokirurgijo,
Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Zaloška 7, 1000 Ljubljana; tvelnar@hotmail.com

POVZETEK

Degenerativna bolezen medvretenčne ploščice in posledična bolečina v hrbtenici sta pomembna vzroka telesne oviranosti. Na spreminjanje jedra medvretenčne ploščice vplivajo številni dejavniki, kar sčasoma vodi v porušenje biomehanike vretenca in nastanka kliničnih težav. Trdovratno bolečino, ki se pojavlja po neuspešnem konzervativnem in operativnem zdravljenju ter jo imenujemo vztrajajoča bolečina po operaciji ledvene hrbtenice, lahko dokaj uspešno zdravimo z nevromodulatornimi tehnikami. Slednje na kratko predstavljamo v članku.

KLJUČNE BESEDE:

medvretenčna ploščica, degeneracija, nevromodulacija, vztrajajoča bolečina po operaciji ledvene hrbtenice

ABSTRACT

Degenerative disc disorder and consequent spine pain represent an important cause of disability. Nucleus pulposus is most commonly affected by numerous factors, which lead to spine biomechanics disability and clinical signs. Persistent pain after conservative and operative treatment, also known as the failed back surgery syndrome, may be efficiently treated using neuromodulatory techniques, which are briefly described in the present article.

KEY WORDS:

intervertebral disc, degeneration, neuromodulation, failed back surgery syndrome

1 UVOD

Degenerativna bolezen medvretenčne ploščice in ledvena bolečina sta kronični težavi, ki nastaneta zaradi številnih vzrokov in predstavljata pomemben vzrok telesne oviranosti. Ledvena bolečina je peti najpogostejši vzrok za obisk pri zdravniku, po nekaterih podatkih se pojavlja pri 8 do 37 % bolnikov, 10 % bolnikov pa je zaradi tega kronično prizadetih (1–3). Bolezen se lahko klinično kaže kot aksialna bolečina, spinalna stenoza, mielopatija ali radikulopatija

(1). Posledice degenerativne bolezni medvretenčne ploščice so med vodilnimi vzroki za kronično nestabilnost obolelih delov hrbtenice in funkcionalne težave, kar močno vpliva na življenje predvsem pri aktivni populaciji (2, 3). Po nekaterih poročilih je degenerativna bolezen medvretenčne ploščice prisotna celo pri 90 % ljudi, veliko od teh pa nima simptomov (3).

Medvretenčno ploščico sestavlja več plasti: vezivni obroč z zunanjim in notranjim delom, osrednje zdrizasto jedro in terminalni plošči (4, 5). Je brezžilna vezivno-hrustančna struktura. Sestavljajo jo maloštevilne celice in zunajcelični matriks, ki gradi večino ploščice. Celice in matriks so nujno potrebni za njeno normalno delovanje (4). Številni mehanski dejavniki, odvisno od trajanja, jakosti, vrste in mesta obremenitve, vplivajo na stanje medvretenčne ploščice in na njen biološki odgovor na te stresne dejavnike (4, 6).

Ledvena bolečina je močno povezana z degeneracijo medvretenčne ploščice. Pri tem procesu se zmanjša višina medvretenčne ploščice in spremeni mehanika v prizadetem segmentu hrbtenice. To vpliva tudi na degeneracijo drugih hrbteničnih struktur. Degeneracija tkiva medvretenčne ploščice se začne prej kot degeneracija drugih mišično-kostnih tkiv in s starostjo narašča (2, 4–7).

Posebna oblika ledvene bolečine je vztrajajoča bolečina po operaciji ledvene hrbtenice (*failed back surgery syndrome*, FBSS). To je kronični bolečinski sindrom neznanega izvora, ki se lahko pojavi po operativnem zdravljenju ledvene hrbtenice, ne glede na vrsto kirurškega posega (laminektomija, odstranitev medvretenčne ploščice, fuzija) (8). Kaže se z bolečino v križu ali v kombinaciji z bolečino v eni ali obeh spodnjih okončinah, locirana pa je na istem mestu kot pred operacijo. Dejavniki, ki vplivajo na njen nastanek, lahko izvirajo že iz časa pred operacijo, lahko pa nastanejo med njo ali v pooperativnem obdobju. Kljub napredku v kirurški tehniki se njena pogostost ni zmanjšala. Zaradi močne kronične bolečine in oviranosti takih bolnikov ima bolezen velik vpliv na posameznika, njegovo socialno okolje in zdravstveni sistem (8–10).

Pri 10 do 40 % bolnikov, ki prestopajo operacijo hrbtenice zaradi ledvene bolečine, bodo bolečine vztrajale kljub operaciji. Te bolečine je zelo težko odpraviti, saj ni moč ugotoviti nobenega oprijemljivega vzroka zanje. Obstaja veliko razlogov za te simptome, ki vključujejo biološke, fiziološke ter psihološke dejavnike (vštevši subtilne in očitno psiho-

loške ali psihiatrične disfunkcije) kot tudi vprašanja socialno-ekonomske narave (11). Predvidevajo, da naj bi bil v 80 % odgovoren mehanski vzrok (9). Približno 30 % bolnikov s FBSS ima opredeljen problem, ki se lahko popravi s ponovno operacijo. Za bolnike s kronično nespecifično bolečino v križu pa kirurški poseg ni indiciran (12, 13). Veliko vzrokov lahko vodi do nastanka FBSS – neustrezna izbira bolnikov za operacijo, napačna začetna diagnoza, ponavljajoče se herniacije medvretenčne ploščice, nestabilnost hrbtenice, bolezen fasetnih sklepov, nepopolna dekompresija nevrnalnih struktur med operacijo ali dekompresija na napačnem mestu, epiduralna fibroza ali trajna poškodba spinalnih korenin (10, 11).

Trenutno najbolj uveljavljen način lajšanja težav, povezanih s FBSS, je nevromodulatorno zdravljenje. V prihodnosti se obeta še nekaj novih metod. Poleg uspešnega nevromodulatornega zdravljenja je tako v fazah razvoja še regeneracijska terapija, ki obeta obnovo degeneriranega matriksa medvretenčne ploščice z rastnimi dejavniki ali zaviralci citokinov, kar naj bi s spodbujanjem celic vplivalo na povečan nastanek in upočasnjeno propadanje matriksa (14, 15).

2 NEVROMODULATORNO ZDRAVLJENJE DISKOGENE BOLEČINE

Cilj nevromodulatornega zdravljenja vztrajajoče bolečine po operaciji ledvene hrbtenice je odstraniti bolečino in omogočiti čim bolj normalno gibanje bolnika, ne pa toliko izboljšati gibljivost prizadetega segmenta ali pa vplivati na regeneracijo prizadete medvretenčne ploščice. Te tehnike zavzemajo poleg konzervativnega in klasičnega operativnega zdravljenja bolezni medvretenčne ploščice posebno mesto (13, 16).

Nevromodulacija vključuje postopke, ki z reverzibilno uporabo električne stimulacije ali dovajanja farmakoloških snovi v osrednji živčni sistem spreminjajo njegove aktivnosti, kot so (ekscitacija, inhibicija ali uskladitev aktivnosti nevronov, z namenom zdravljenja specifičnih stanj (16, 17). Najpogosteje uporabljen postopek je stimulacija hrbtenjače. Prvič so jo izvedli leta 1967 in predstavlja prehod od ablativnih posegov k reverzibilni nevromodulaciji. Glavni tarči sta motorična skorja in zadnji stebrički hrbtenjače (16–20).



Ločimo nevropatsko in nociceptivno bolečino. Prva nastopa predvsem pri okvari živčnega tkiva – simpatična bolečina, kompleksna regionalna bolečina ali poškodba hrbtenjače. Bolniki jo opisujejo kot pečenje, ščemenje, mravljinčenje, zbadanje oziroma skelenje. Druga pa je lahko topa ali ostra. Nastopi zaradi visceralnih bolezní ali prizadetosti sklepov in mišic; lahko je poškodba, vnetje ali neoplastični infiltrat. Pri vztrajajoči bolečini po operaciji ledvene hrbtenice, torej pri FBSS, gre lahko za obe vrsti bolečine, nevropatsko in nociceptivno (16, 17).

Bolečino lahko zdravimo konzervativno in operativno. Načini konzervativnega zdravljenja nevropatske bolečine so fizikalna terapija, transkutana električna nevrostimulacija (TENS), stimulacija živca ter uporaba antidepresivov in antiepileptikov. Naslednja izbira v zdravljenju nevropatske bolečine je nevrostimulacija (*spinal cord stimulation*, SCS) ali intratekalna aplikacija zdravil. Začetno zdravljenje nociceptivne bolečine je prav tako konzervativno (fizikalna terapija, opiodi, nesteroidni antirevmatiki in infiltracije). Ko slednje postane neučinkovito, sta mogoči kirurška terapija (sekcija korenine in v primeru maligne bolečine sekcija spinotalamične proge) ter intratekalna uporaba zdravil (17).

2.1 NEVROSTIMULACIJA HRBTNEGA MOZGA

Nevrostimulacija hrbtnege mozga je izbran postopek za zdravljenje nevropatske bolečine, neodzivne na zdravljenje z zdravili (11, 18, 21). Ta zajema bolečino, ki izvira iz poškodbe ledveno-križnih korenin, kompleksni regionalni bolečinski sindrom in z zdravili neobvladljiv FBSS. O tem sindromu govorimo, kadar srečamo vztrajajočo ali ponavljajočo se bolečino v križu in/ali nogi, tudi po tehnično uspešni operaciji ledveno-križne hrbtenice. Nevrostimulacija je zlasti uspešna pri nevropatski bolečini. Ugodni rezultati pa se kažejo tudi pri mešani bolečini. Pri bolnikih s FBSS, ki niso odgovorili na nevrostimulacijo in ki imajo pretežno nociceptivno bolečino v križu in difuzno bolečino, pa uporabimo intratekalno dovajanje zdravil (18, 22).

Pri nevrostimulaciji preko vstavljenih elektrod (sliki 1 in 2) električno dražimo hrbtenjačo z nizkonapetostnimi električnimi impulzi z namenom povzročitve ugodne parestezije v področju bolečine. Namen je dosežen, če ugodne parestezije zajamejo okoli 80 % bolečega območja in če vztraja vsaj 50-odstotno zmanjšanje bolečine v času enega leta spremljanja bolnika (18, 23). Bolnika, ki ima kljub operacijam, zdravilom in fizikalni terapiji neobvladljivo bolečino v nogi, se napoti na obravnavo v protibolečinsko ambulanto.

Tam ga vključijo v program testiranja, s katerim ugotovijo, ali je primeren kandidat za vgradnjo nevrostimulatorja. Program testiranja vključuje elektromiogram (EMG) spodnjih okončin, preiskavo senzoričke (*current perception threshold*, CPT), psihološko testiranje in TENS. Nevrostimulacija pri pravilno izbranih bolnikih zagotavlja dolgotrajno olajšanje bolečine (16, 18, 23, 24).

Terapija z električno stimulacijo hrbtenjače temelji med drugim na teoriji vrat, ki predpostavlja, da aktivnost v debelih mieliniziranih aferentnih vlaknih prepreči prenos signalov v možgane (16, 19). Gre pa tudi za aktivacijo supraspinalnih zank, ki se prenašajo preko možganskega debla ali talamokortikalnih poti. Po drugi strani gre tudi za direktno aktivacijo descendentnega sistema, ki kontrolira prenos bolečine v hrbtenjači. Modulira se tudi aktivnost avtonomnega živčevja – navadno z inhibicijo simpatičnih vlaken. SCS lahko v določenih primerih nevropatske, ishemične in visceralne bolečine le-to učinkovito zmanjša. Pride do inhibicije preobčutljivih nevronov zadnjega roga hrbtenjače preko ojačenja inhibitornega učinka γ -aminomaslene kisline in zmanjšanja ekscitatornega glutamatnega učinka. SCS namreč povzroči sproščanje serotonina, noradrenalina in γ -aminomaslene kisline v zadnjih rogovih hrbtenjače, kar je preko aktivacije receptorjev za γ -aminomasleno kislino povezano z zmanjšanjem sproščanja glutamata in drugih ekscitatornih aminokislin ter s tem posledično zmanjšanje nevropatske bolečine (17, 18, 22–24).

2.2 INTRATEKALNA APLIKACIJA ZDRAVIL

Druga možnost za zdravljenje FBSS, poleg nevrostimulacije, je intratekalno zdravljenje z zdravili. Lažanje maligne in nevropatske bolečine ali spastičnosti je bolj učinkovito, kadar zdravilo deluje neposredno v hrbteničnem kanalu. Tehnike vbrizgavanja zdravila v hrbtenični kanal so ledvena punkcija (v primeru enkratnega vbrizga), kateter v hrbteničnem kanalu (za dlje časa, vendar predstavlja nevarnost okužbe) in elektronska črpalka, povezana s katetrom (16–18, 22–24).

Razvoj tehnologije za intratekalno dovajanje zdravil je pred 20 leti omogočil začetek vgrajevanja elektronskih črpalk. Sistem vključuje črpalko, kateter za podkožno povezavo črpalke z intratekalnim prostorom, napravo za programiranje za zdravnika in kot možnost tudi napravo za nadzor črpalke za bolnika. Črpalka, ki je povezana s katetrom v hrbteničnem kanalu, samodejno vbrizgava izbrane odmerke zdravil (slika 3).



Slika 1: Rentgenska slika vgrajene elektrode za stimulacijo zadnjih stebričkov hrbtenjače. Tanka puščica označuje elektrodo v hrbteničnem kanalu, debela pa povezovalno žico z baterijo v trebušni steni (avtor slike: Tadej Strojnik, Oddelek za nevrokirurgijo, Univerzitetni klinični center Maribor).

Figure 1: An X-ray image of implanted electrodes for stimulation of the rear spinal cord columns. The thin arrow indicates the electrode positioned in the spinal canal, the thick arrow indicates the connecting wire to the battery in the abdominal wall (photo: Tadej Strojnik, Department of Neurosurgery, University Medical Centre Maribor).



Slika 2: Nevrostimulator ITREL 3 za stimulacijo zadnjih stebričkov hrbtenjače (avtor slike: Tadej Strojnik, Oddelek za nevrokirurgijo, Univerzitetni klinični center Maribor).

Figure 2: The ITREL 3 neurostimulator for the stimulation of the rear columns (photo: Tadej Strojnik, Department of Neurosurgery, University Medical Centre Maribor).



Slika 3: Črpalka sistema za intratekalno dovajanje zdravila. Med kirurškim posegom črpalko vgradimo pod trebušno steno in povežemo s katetrom, ki vodi v hrbtenični kanal (avtor slike: Tadej Strojnik, Oddelek za nevrokirurgijo, Univerzitetni klinični center Maribor).

Figure 3: The system for the intrathecal drug delivery. During surgery, the pump is installed into the subcutaneous tissue of the abdominal wall. The pump is connected to a catheter, leading into the spinal canal (photo: Tadej Strojnik, Department of Neurosurgery, University Medical Centre Maribor).

Sprva so uporabljali predvsem morfij, z nadaljnjim razvojem tehnike pa so pričeli z uporabo tudi drugih posamičnih zdravil in kombinacij. Za lajšanje kronične neoplastične bolečine proučujejo predvsem klonidin in gabapentin (16, 22, 24).

Pogoj za vgradnjo črpalke je stabilno zdravstveno stanje (pozdravljeno morebitno vnetje) in uspešno opravljen preizkus z vbrizgavanjem posameznih odmerkov zdravila. Črpalko, ki je povezana s hrbteničnim kanalom, nevrokirurg vstavi pod trebušno steno in jo tam pričvrsti (slika 4). Črpalka, ki je napolnjena z zdravilom, stalno dovaja ustrezen odmerek zdravila v hrbtenični kanal. Baterija deluje približno pet let, nato jo je potrebno zamenjati. Sodobne modele je že mogoče ponovno napolniti tudi brez menjave baterije.

Rezervoar polnimo preko kože z iglo in brizgo vsakih nekaj mesecev – običajno tri do šest mesecev, odvisno od koncentracije in odmerjanja zdravila (slika 5). Na pravo uravnavamo s pomočjo zunanje naprave (programerja).





Slika 4: Nameščanje črpalke pod trebušno steno. Puščica označuje kateter, povezan s črpalčko (avtor slike: Tadej Strojnik, Oddelek za nevrokirurgijo, Univerzitetni klinični center Maribor).

Figure 4: The pump implantation into the subcutaneous tissue of the abdominal wall. The arrow indicates the catheter connected to the pump (photo: Tadej Strojnik, Department of Neurosurgery, University Medical Centre Maribor).



Slika 5: Polnjenje rezervoarja v črpalčki (tanki puščici) z zdravilom preko protimikrobnega filtra (debeli puščici) (avtor slike: Tadej Strojnik, Oddelek za nevrokirurgijo, Univerzitetni klinični center Maribor).

Figure 5: Filling of the pump reservoir (thin arrow) with the drug over an antimicrobial filter (thick arrow) (photo: Tadej Strojnik, Department of Neurosurgery, University Medical Centre Maribor).

3 SKLEP

Bolezni medvretenčne ploščice so velik zdravstveni problem, ki mu še nismo povsem kos. Za bolnike s kronično bolečino v križu, ki se širi v eno ali obe spodnji okončini in vztraja kljub uspešni kirurški terapiji, je metoda izbora zdravljenje z nevromodulacijo, saj izboljša kakovost življenja, zmanjša bolečino in potrebo po zdravljenju z zdravili. Metoda zajema nevrostimulatorno zdravljenje in intratekalno dovajanje zdravil. Za uspešen izid zdravljenja sta potrebni ustreznost izbora bolnikov za ta poseg ter pravilna predoperativna nevropsihološka ocena.

4 LITERATURA

1. Maniadas N, Gray A. The economic burden of back pain in the UK. *Pain* 2000; 84: 95–103.
2. Cheung KM, Karppinen J, Chan D et al. Prevalence and pattern of lumbar magnetic resonance imaging changes in a population

- study of one thousand forty-three individuals. *Spine*. 2009; 34: 934–940.
3. Kanayama M, Togawa D, Takahashi C, et al. Cross-sectional magnetic resonance imaging study of lumbar disc degeneration in 200 healthy individuals. *J Neurosurg Spine* 2009; 11: 501–507.
4. Boxberger JI, Orlansky AS, Sen K et al. Reduced nucleus pulposus glycosaminoglycan content alters intervertebral disc dynamic viscoelastic mechanics. *J Biomech* 2009; 42: 1941–1946.
5. Colombini A, Lombardi G, Corsi MM et al. Pathophysiology of the human intervertebral disc. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 837–842.
6. Hsieh AH, Twomey JD. Cellular mechanobiology of the intervertebral disc: New directions and approaches. *J Biomech* 2010; 43: 137–145.
7. Miller JA, Schmatz C, Schultz AB. Lumbar disc degeneration: Correlation with Age, Sex, and Spine Level in 600 Autopsy Specimens. *Spine* 1988; 13: 173–178.
8. Chan CW, Peng P. Failed back surgery syndrome. *Pain Med* 2011; 12: 577–606.
9. Teixeira MJ, Yeng LT, Garcia OG et al. Failed back surgery pain syndrome: therapeutic approach descriptive study in 56 patients. *Rev Assoc Med Bras* 2011; 57: 282–287.
10. Thomé C. Chronic back pain-operative therapeutic options in chronic back pain. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2009; 44: 48–55.
11. Strojnik T, Velnar T, Krčevski Škvarč N. Is the spinal cord stimulation an effective treatment for failed back surgery syndrome? Our experience with 21 cases. *Acta medico-biotechnica* 2010; 3: 25–34.
12. Singh K, Masuda K, Thonar EJ et al. Age-related changes in the extracellular matrix of nucleus pulposus and anulus fibrosus of human intervertebral disc. *Spine* 2009; 34: 10–6.

13. Skaf G, Bouclaous C, Alaraj A et al. Clinical outcome of surgical treatment of failed back surgery syndrome. *Surg Neurol* 2005; 64: 483–489.
14. Egli D, Hausmann O, Schmid M et al. Lumbar spinal stenosis: assessment of cauda equina involvement by electrophysiological recordings. *J Neurol* 2007; 254: 741–750.
15. Ganey TM, Meisel HJ. A potential role for cell-based therapeutics in the treatment of intervertebral disc herniation. *Eur Spine J* 2002; 11: 206–214.
16. Rainov NG, Demmel W, Heidecke V. Dual electrode spinal cord stimulation in chronic leg and back pain. *Acta Neurochir Suppl* 2007; 97: 85–89.
17. Stojanovic MP, Abdi S. Spinal cord stimulation. *Pain Physician* 2002; 5: 156–166.
18. Nicholson CL, Korfias S, Jenkins A. Spinal cord stimulation for failed back surgery syndrome and other disorders. *Acta Neurochir Suppl* 2007; 97: 71–77.
19. Strojnik T. Nevromodulacija in nevrokirurško zdravljenje bolečine. In: Bošnjak R, Bunc G, Casar B. *Izbrana poglavja iz nevrokirurgije. Medicinska fakulteta*; 2010: 255–266.
20. Strojnik T. Nevrostimulacija v zdravljenju neobvladljive bolečine: v mariborski bolnišnici smo začeli s stimulacijo hrbtenjače bolnikov s hudo kronično bolečino. *ISIS* 2004; 13: 50–52.
21. Kunnumpurath S, Srinivasagopalan R, Vadivelu N. Spinal cord stimulation: principles of past, present and future practice: a review. *J Clin Monit Compu.* 2009; 23: 333–339.
22. Taylor RS. Spinal cord stimulation in complex regional pain syndrome and refractory neuropathic back and leg pain/failed back surgery syndrome: results of a systematic review and meta-analysis. *J Pain Symptom Manage* 2006; 31: 13–19.
23. De Andrés J, Van Buyten JP. Neural modulation by stimulation. *Pain Pract* 2006; 6: 39–45.
24. North RB, Wetzel FT. Spinal cord stimulation for chronic pain of spinal origin: a valuable long-term solution. *Spine (Phila Pa 1976)* 2002; 27: 2584–2592.



NOVI DOKTORJI ZNANOSTI

NEW DOCTORS OF SCIENCE

UREDILI / EDITORS:

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

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

dr. PETER MOLEK, mag. farm.

RAZVOJ PEPTIDNIH MODULATORJEV DELOVANJA LEPTINA IN VREDNOTENJE NJIHOVE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI

Mentor: doc. dr. Tomaž Bratkovič, mag. farm.

Peter Molek je eksperimentalno delo posvetil identifikaciji peptidnih in proteinskih modulatorjev signalizacije leptina in vrednotenju njihove aktivnosti. Hiperleptinemija, dokumentirana pri posameznikih s prekomerno telesno maso, je povezana z razvojem nekaterih debelosti pridruženih bolezni, zato periferno zaviranje signalizacije leptina predstavlja potencialen nov terapevtski pristop. Doktorand je kot diagnostična orodja razvijal tudi sonde za detekcijo antigenov (na primer leptinskega receptorja) na osnovi bakteriofagnih delcev.

Kot osnovno metodologijo je uporabil presejanje kombinatoričnih knjižnic peptidov in enoveržnih fragmentov variabilnih regij protiteles, izraženih na bakteriofagnih ali fagmidnih vektorjih. Z inovativno modifikacijo postopka

afinitetne selekcije je izoliral ligande leptinskega receptorja in zanje potrdil kompetitivno interakcijo z leptinom. Biološko delovanje ligandov je ocenil tudi na celičnem testu. Pri načrtovanju bakteriofagnih sond za detekcijo antigenov se je oprl na t. i. sistem predstavitve *trans*, tj. kombinacijo bakteriofagnega in fagmidnega vektorja. Izražanje vezavne komponente (fragmenta protitelesa) in reporter-ske komponente (zelenega fluorescenčnega proteina) je ovrednotil z encimsko-immunskimi testi, prenosom western in fluorescenčno mikroskopijo. Raziskave, ki jih je doktorand opravil, so privedle do izvirnih novih znanstvenih dognanj, ki so zanimiva tako z vidika bazične znanosti (razvoj in implementacija metode afinitetne selekcije za obogatitev kompetitivnih ligandov večdomenskih proteinov) kot tudi aplikacije (zaviralec interakcij med leptinom in njegovim receptorjem ter prototip bakteriofagnega biosenzorja).

dr. Matej Štuhec, mag. farm.

EPIDEMIOLOGIJA, FARMAKOEPIDEMIOLOGIJA TER PRIMERJALNA UČINKOVITOST IN SPREJEMLJIVOST ZDRAVIL ZA ZDRAVLJENJE HIPERKINETIČNE MOTNJE OTROK IN MLADOSTNIKOV

Mentorica: izr. prof. dr. Vesna Švab, dr. med., spec. psih.
Sommentor: doc. dr. Igor Locatelli, mag. farm.

Matej Štuhec je na inovativen način ocenil prevalenčno stopnjo hiperkinetične motnje otrok in mladostnikov v Sloveniji. Opozoril je na neenakomerno porabo zdravil za hiperkinetično motnjo med zdravstvenimi regijami v Sloveniji. Opredelil je primerjalno učinkovitost in sprejemljivost zdravil za zdravljenje te motnje ter naredil prvo tovrstno metaanalizo, ki v literaturi do sedaj še ni bila objavljena. Med prvimi je opozoril na problem pojava kardiovaskularnih neželenih učinkov pri aplikaciji terapevtskih odmerkov atomoksetina. Samostojne raziskave so v predloženi doktorski disertaciji zajete v smiselno celoto, ki kot taka predstavlja pomemben prispevek k znanosti na področju vrednotenja zdravstvenih



izidov pri zdravljenju hiperkinetične motnje pri otrocih in mladostnikih.

Njegovo zanimanje za področje obravnave otrok s hiperkinetično motnjo izhaja iz izkušenj kliničnega farmacevta, ki se je v svoji praksi srečal z neustrezno obravnavo, farmakološkimi zapleti pri zdravljenju in trpljenjem mlade ženske s hiperkinetično motnjo. Zanimanje za področje izhaja torej prav iz akademske odličnosti, saj je za utemeljitev svojih strokovnih vprašanj o obstoječih oblikah obravnave uporabil znanstvene metode in s pomočjo somentorja doc. dr. Locatellija zbral veliko količino relevantnih podatkov, jih ustrezno analiziral in interpretiral na način, da lahko služijo kot smernice za obravnavo otrok s hiperkinetično motnjo v našem okolju in v mednarodnem prostoru. Znanstveno uspešnost in pravilnost dognanj je dokazal z objavami v številnih mednarodnih revijah z velikim dejavnikom vpliva. Ob tem je opozoril tudi na številna pereča in ne dovolj raziskana vprašanja o resnični prevalenci te bolezni, katere diagnosticiranje je skokovito naraščalo, ne da bi lahko natančno odgovorili, kaj so vzroki za to, in se zdaj vse pogosteje pojavlja tudi pri odraslih. Opozoril je na krivičnost neenakomernega dostopa do pomoči, kar vodi v hude sekundarne posledice in invalidnost vsaj na psihosocialnem področju. Njegov zaključek je tudi, da najdražja in najbolj oglaševana zdravila niso nujno najbolj učinkovita in sprejemljiva za paciente. Njegovo delo lahko bistveno pripomore h kakovosti obravnave ljudi z diagnozo hiperkinetične motnje in k napredku stroke.

dr. Peter Vrtačnik, mag. farm.

VPLIV ESTROGENOV, OKSIDATIVNEGA STRESA IN HIPOKSIJE NA EPIGENETSKE PROCESE V OSTEOLASTIH

Mentorica: izr. prof. dr. Barbara Ostanek, mag. farm.

Estrogeni, oksidativni stres in hipoksija močno vplivajo na kostno prenavo in s tem na razvoj kostnih bolezni, kot je osteoporozo. Poleg tega v zadnjem času študije opisujejo pomembno vlogo epigenetskih mehanizmov v kosteh. Ker do sedaj vprašanje povezave med obema skupinama regulatorjev kostne homeostaze še ni bilo obravnavano, je bil osnovni namen dela Petra Vrtačnika proučiti, kako estrogeni, oksidativni stres in hipoksija vplivajo na izražanje ge-

nov za histonske acetilaze, histonske deacetilaze, DNA-metiltransferaze in miRNA ter s tem na epigenetske procese v osteoblastih.

Jedro doktorske disertacije predstavljajo štirje objavljeni članki v uglednih revijah z dejavnikom vpliva in doktorandom kot prvim avtorjem. Peter Vrtačnik je najprej z vnosom kodirajočega dela za estrogenski receptor alfa v osteosarkomsko celično linijo HOS pripravil primeren eksperimentalni *in vitro* model. Na njem je kot prvi v osteoblastih proučeval in dokazal vpliv oksidativnega stresa in hipoksije na izražanje več genov, povezanih z epigenetskimi spremembami. V nadaljevanju je rezultate nadgradil z analizo izražanja najbolj obetavnih genov v obsežni zbirki kostnih vzorcev, pridobljenih od bolnikov z osteoporozo ali osteoartrozo ter kontrol, brez znakov kostnih bolezni. Ugotovljene razlike v izražanju genov za histonski acetilazi HAT1 in KAT5, histonski deacetilazi HDAC6 in HDAC9 ter genoma, vpletenima v metilacijo DNA, MBD1 in DNMT3A, predstavljajo prvi dokaz o vpletenosti teh genov v patogenezo osteoporozo in osteoartrozo. Ti geni predstavljajo tudi potencialne tarče, na katerih bi lahko temeljila prihodnja generacija zdravilnih učinkovin z anaboličnim delovanjem na skelet. Doktorska disertacija Petra Vrtačnika predstavlja izviren prispevek k znanosti na področju kostne biologije.

dr. Boris Brus, mag. farm.

STRUKTURNO-PODPRTO NAČRTOVANJE IN VREDNOTENJE SPOJIN S POTENCIALNIM IMUNOMODULATORNIM IN NEVROPROTEKTIVNIM DELOVANJEM

Mentor: prof. dr. Stanislav Gobec, mag. farm.

Metode virtualnega reševanja imajo zaradi svoje hitrosti, učinkovitosti in cenovne dostopnosti vedno pomembnejšo vlogo v procesu odkrivanja novih zdravilnih učinkovin. V okviru doktorske disertacije je Boris Brus razvil protokol za pripravo kakovostnih in ciljanih knjižnic spojin, ki so predstavljale osnovo za izvedbo virtualnih reševanj na treh različnih terapevtsko pomembnih tarčah.



S strukturno podprtim virtualnim rešetanjem je Boris Brus omogočil odkritje novih antagonistov receptorja TLR4 in zaviralcev imunoproteasoma. Obe skupini spojin predstavljata obetavno izhodišče za nadaljnji razvoj, saj imajo spojine zanimiv *in vitro* profil delovanja.

Nove zaviralce encima butirilholin-esteraze je Boris Brus iskal s strukturno podprtim virtualnim rešetanjem predhodno filtrirane in obogatene knjižnice spojin. Odkril je disubstituiran piperidinski analog z encimsko zaviralno aktivnostjo v nanomolarnem območju. Proučil je kinetiko zaviranja encima in sodeloval pri razrešitvi kristalne strukture kompleksa, ki je omogočila strukturno podprto optimizacijo in razvoj dveh serij spojin z izboljšanimi lastnostmi. Biološko vrednotenje tako razvitih derivatov je razkrilo močno izboljšano zaviralno delovanje nekaterih analogov, njihove inhibitorne konstante segajo celo v pikomolarno koncentracijsko območje. Za enega izmed zaviralcev butirilholin-esteraze smo ugotovili, da upočasnjuje padec kognitivnih sposobnosti na mišjem modelu Alzheimerjeve bolezni in tako predstavlja optimizirano spojino vodnico z možnostjo prehoda v klinične razuksave.

Rezultati doktorskega dela Borisa Brusa potrjujejo hipotezo, da lahko z metodami virtualnega rešetanja ustrezno pripravljenih knjižnic spojin identificiramo nove spojine z aktivnostjo v mikromolarnem ali celo v nanomolarnem območju. Iz svoje doktorske disertacije je Boris Brus objavil 13 člankov v uglednih mednarodnih revijah, enega tudi kot prvi avtor v *Journal of Medicinal Chemistry*, ki je najpomembnejša revija na področju farmacevtske kemije.

dr. Tjaša Vižin, mag. farm.

VLOGA GAMA-ENOLAZE PRI RAKU IN NJENO URAVNAVANJE S PROTEOLITIČNIMI ENCIMI

Mentor: prof. dr. Janko Kos, univ. dipl. kem.

Tjaša Vižin v doktorskem delu raziskovala vlogo gama-enolaze in katepsina X v tumorskih procesih in preverila njuno diagnostično uporabnost pri pacientih z rakom črevesja. Gama-enolaza je encim glikolitične poti, ki se nahaja v nevronskih in neuroendokrinih celicah. Njeno prekomerno izražanje je značilno za tumorje nevrogenega in neuroendokrinega izvora, mehanizmi delovanja pa še niso bili raziskani. Gama-enolaza prispeva k pospešeni aerobni glikolizi, glavnemu viru energije tumorskih celic in omogoča njihovo

prolifracijo. V zadnjem času ugotovljajo, da lahko deluje kot dejavnik preživetja preko trofičnega aktivnega mesta na C-koncu molekule, kar so dokazali v nevronskih celicah. Trofično aktivnost gama-enolaze uravnava cisteinska proteaza katepsin X, ki odcepi dva aminokislinska preostanka na C-koncu.

Tjaša Vižin je ugotovila, da se necepljena gama-enolaza različno izraža v rakavih celičnih linijah in da je odvisna od izražanja katepsina X. V zunajceličnem prostoru prevladuje predvsem necepljena oblika gama-enolaze. Vrednosti gama-enolaze v serumih bolnikov z rakom črevesja niso bile bistveno povišane glede na kontrolne vzorce in tudi niso bile povezane s kliničnimi parametri. Pa vendar pri bolnikih z metastatskim rakom lahko napovejo potek bolezni in odgovor bolnikov na paliativno kemoterapijo. Doktorandka je ugotovila tudi, da je v serumih bolnikov z ne-metastatskim rakom črevesja katepsin X novi potencialni kazalec za prognozo in napoved odziva na kemoterapijo.

dr. Barbara Pogorelčnik, univ. dipl. ing. kem. tehnol.

STRUKTURNO PODPRTO NAČRTOVANJE NOVIH ZAVIRALCEV ČLOVEŠKE DNA TOPOIZOMERAZE IIA

Mentor: prof. dr. Tomaž Šolmajer, dipl. inž. fiz.
Somentor: doc. dr. Andrej Perdih, mag. farm.

Barbara Pogorelčnik je svoje delo zasnovala z metodo strukturno podprtega načrtovanja, ki obsega načrtovanje na osnovi poznavanja vezavnega mesta tarče, sintezo in/ali rešetanje knjižnic spojin, biološko ovrednotenje in določitev strukture kompleksa ligand-receptor.

V uvodu je predstavila encime družine DNA-topoizomeraz, mehanizem delovanja, zaviralce iz skupine topoizomeraznih strupov in katalitične zaviralce. Obe skupini zaviralcev sta bili tema dveh preglednih člankov, ki sta del disertacije. DNA-topoizomeraza Ila je validirana tarča za razvoj novih protirakovih učinkovin. Hipoteza, s katero je doktorandka zastavila delo na disertaciji, je bila, da s pomočjo dostopnih strukturnih podatkov za človeško topoizomerazo razvije validirane protokole virtualnega rešetanja za identifikacijo novih zaviralcev, ki se vežejo na ATP-vezavno mesto en-

cima. Za spojine iz knjižnic dostopnih spojin, izbrane na osnovi teh računalniških poskusov, je z eksperimentalnimi pristopi izmerila njihovo biološko aktivnost in z biofizikalnimi metodami okarakterizirala vezavo na encim. S to metodologijo strukturno podprtega načrtovanja je odkrila več novih razredov zaviralcev z delovanjem na ATP-vezavnem mestu: (i) 4-amino-6-(fenilamin)-1,3,5-triazine, z aktivnostjo v mikromolarnem območju in selektivnim citotoksičnim delovanjem na celice jetrnega hepatoma (HepG2) v primerjavi z normalnimi, nerakavimi celicami HUVEC, (ii) analoge purinov in pirazolo-pirimidinov z aktivnostjo v mikromolarnem območju in sposobnostjo zaviranja razpletanja človeške topoizomeraze. Vezavo na ATPazno domeno je eksperimentalno potrdila z meritvami površinske plazmonske resonance, model vezave pa preverila s simulacijami z molekulsko dinamiko. (iii) zaviralci iz razreda 1,3,5 triazinov so bili izhodišče za optimizacijo in odkritje monocikličnih zaviralcev s 1,3,5-triazin-2(1H)-onskim fragmentom. Tudi vezavo teh spojin na ATPazno domeno je okarakterizirala z meritvami mikrotermoforeze in simulacijami z molekulsko dinamiko.

Doktorandka je z uporabo široke palete sodobnih računalniških in eksperimentalnih metod načrtovanja učinkovin odkrila več razredov novih katalitičnih zaviralcev človeške DNA-topoizomeraze II α , ki se vežejo na ATP-vezavno mesto, in jih eksperimentalno okarakterizirala. Rezultate dela je predstavila tudi v treh publikacijah v mednarodnih revijah. Doktorska disertacija tako predstavlja pomembno izhodišče za nadaljnji razvoj novih protirakavih učinkovin in je tudi prispevek k razumevanju mehanizma zaviranja DNA-topoizomeraz II α .

dr. Eva Tavčar Benković, mag. farm.
**FITOKEMIJSKE RAZISKAVE
FAGOPIRINOV IZ NAVADNE
AJDE IN FENOLOV IZ NAVADNE
JELKE**

Mentor: prof. dr. Samo Kreft, mag. farm.
Somentor: izr. prof. dr. Damjan Janeš, mag. farm.

Eva Tavčar Benković je raziskovala sestavo dveh rastlinskih snovi: izvlečka bele jelke (*Abies alba*) in zeli ajde (*Fagopyrum esculentum*). Pri ajdi so jo zanimale fototoksične snovi, torej snovi, ki po zaužitju in sledečem obsevanju s sončno

svetlobo povzročijo nastanek kožnih izpuščajev. Njeno glavno odkritje je bilo, da ajda poleg fagopirina, ki je znanosti znan že nekaj desetletij, vsebuje še vsaj sedem drugih podobnih snovi. Dvema je ugotovila točno kemijsko strukturo, in sicer gre za naftodiantronski skelet, na katerega sta pripeta dva petčlenska dušikova heterocikla oziroma en petčlenski in en šestčlenski dušikov heterocikel. Da se je do tega odkritja dokopala, je morala predhodno raziskati ekstrakcijske in analizne postopke, primerne za tovrstne slabo topne spojine.

Izvleček bele jelke je bil ob začetku njenega dela povsem kemijsko neraziskan, zato so jo zanimale vse snovi, ki se v njem nahajajo. Morala je razviti ekstrakcijske in analizne postopke, s katerimi je lahko ustrezno ločila frakcije in posamezne snovi, ki jih je nato identificirala. Glavni rezultat njenih analiz ekstrakta jelke je bila identifikacija 13 snovi. Vse spadajo med rastlinske polifenole, večinoma pa so lignani, fenolne kisline in flavonoidi. S farmakološkimi raziskavami je pokazala, da izvleček jelke deluje antiaterogeno in kardioprotektivno, nastanek ateroskleroze je posledica diete, bogate s holesterolom in nasičenimi maščobami. Če pa že pride do zamašitve srčnih žil, so poškodbe srčne mišice zaradi jelke manjše kot pri kontrolnem eksperimentu.

Rezultate svojega raziskovalnega dela je kandidatka objavila v sedmih člankih v revijah z dejavnikom vpliva. Dve izmed teh revij sta celo prva ali druga najuglednejša revija svojega področja.

dr. Simon Žurga, mag. farm.
**BIOKEMIJSKE LASTNOSTI IN
DELOVANJE RICINU B
PODOBNEGA LEKTINA IZ GOBE
MACROLEPIOTA PROCERA**

Mentor: prof. dr. Janko Kos, univ. dipl. kem.
Somentorica: znan. sod. dr. Jerica Sabotič, univ. dipl. mikrobiol.

Simon Žurga je v doktorskem delu proučeval lastnosti in delovanje lektina MpL iz gobe orjaškega dežnika. Pripravil je rekombinantne različice lektina in z uporabo mutant ugotovil pozicijo vezavnih mest za glikane. Lektinu je določil tudi natančno specifičnost vezave glikanov in preveril, če



lahko lektin tvori višje oligomerne strukture. Rekombinantnemu lektinu je določil tudi 3D struktura, ki kaže, da spada med ricinu B podobne lektine z β -triperesnim vzorcem zvitja, ki ga sestavljajo tri strukturno podobne ponovitve α , β in γ . S pomočjo glikanskih mikromrež je ugotovil, da je lektin najbolj specifičen za terminalne N-acetilglukozaminske enote. V nadaljevanju je ugotavljal tudi biološko delovanje lektina na ogorčice in humane celične linije, določil subcelično lokalizacijo in načine celičnega vnosa.

Lektin rMpL izkazuje močno toksičnost za ogorčice *C. elegans* in njene mutante z okrnjeno sintezo glikanov. Za razliko od ogorčic pa lektin rMpL ni bil toksičen za humane celične linije. Opažen je bil njegov vpliv na adhezijo diferenciranih celic histiocitnega limfoma U937. S pripravo fuzijskih proteinov lektina in proteaznih inhibitorjev je doktorand dokazal, da so lektini primerni za vnos proteaznih inhibitorjev v tumorske celice.

Simon Žurga je rezultate doktorskega dela objavil v dveh člankih v uglednih revijah z dejavnikom vpliva in jih predstavil na mednarodnih konferencah.

dr. Mitja Pišlar, mag. farm.

RAZVOJ MODELA PREHODA PELET SKOZI ŽELODEC ZA NAPOVEDOVANJE KINETIKE ABSORPCIJE UČINKOVINE

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar, mag. farm.

Somentorica: prof. dr. Marija Bogataj, mag. farm.

Mitja Pišlar je v svoji doktorski disertaciji pokazal, da so modeli, ki predstavljajo poenostavitve realnih in kompleksnih sistemov in vključujejo glavne dejavnike sistemov, ključni za razumevanje, pojasnjevanje ter napovedovanje obnašanja farmacevtskih oblik v pogojih *in vivo*.

V sklopu doktorske naloge je razvil model, ki opisuje *in vivo* sproščanje natrijevega diklofenakata po zaužitju pelet s podaljšanim sproščanjem in napoveduje absorpcijo diklofenaka v sistemski krvni obtok. Doktorand je dokazal, da je mogoče v primerjavi s konvencionalnimi *in vitro* testi sproščanja, ki jih predpisujejo regulatorni organi, z upoštevanjem individualnih profilov praznjenja pelet iz želodca bolje napovedati individualne *in vivo* profile sproščanja ozi-

roma absorpcijske profile. Doktorand je preveril tudi, ali razviti model napovedovanja absorpcije ustrezno ponazarja čas prehoda tablet skozi tanko črevo. Ugotovil je, da praznjenje tablet iz želodca poteka 0–2 uri, čas prehoda skozi tanko črevo pa v povprečju znaša 3,5–4 ure.

Jedro doktorske disertacije predstavljajo trije objavljeni članki v revijah z velikim dejavnikom vpliva, predložena disertacija z inovativnimi metodološkimi pristopi in izstopajočimi rezultati pa predstavlja pomemben izviren prispevek k znanosti na področju razvoja in uporabe modelov v farmakokinetiki.

Mitja Pišlar je za svoje raziskovalne dosežke prejel Krkino nagrado za leto 2015 z obrazložitvijo, da je njegov prispevek k znanosti neprecenljiv vir navdiha današnjim in prihodnjim generacijam Krkinih nagrajencev.

dr. Alenka Šmid, mag. farm.

PROUČEVANJE BIOKEMIČNIH IN GENETSKIH DEJAVNIKOV PRI INDIVIDUALIZACIJI ZDRAVLJENJA S TIOPURINI

Mentor: prof. dr. Irena Mlinarič Raščan, mag. farm.

Poglavitni namen doktorske disertacije Alenke Šmid je bil prispevati k razumevanju pojava toksičnosti tiopurinov v terapiji akutne limfoblastne levkemije (ALL) otroške dobe ter pridobljeno znanje in ugotovitve prenesti v klinično prakso v smislu individualizacije terapije.

Alenka Šmid je biološke in genetske dejavnike napovedi učinkovitosti in pojava stranskih učinkov proučevala z izrazito interdisciplinarnim pristopom. Z uporabo omskih tehnologij je na modelih rastoče kompleksnosti od *in vitro* biokemijskih testov, *in vivo* celičnih kultur, bioloških vzorcev zdravih prostovoljcev in pacientov v procesu zdravljenja razreševala znanstvene probleme in preverjala zastavljene hipoteze.

V disertaciji so predstavljeni dokazi o vplivu S-adenozil metionina na aktivnost encima TPMT. Izsledki raziskav nakazujejo smiselnost določanja koncentracije SAM in poleg diagnostične vrednosti nakazujejo tudi potencialno uporabo SAM v terapiji s tiopurini, s katerim bi lahko uravnavali tveganje za pojav neželenih učinkov terapije.

Doktorandka je nadalje dokazala vpliv genskih polimorfizmov ključnih akterjev metioninskega in folatnega cikla na napovedne modele učinkovitosti in toksičnosti. Z nehipotetičnim farmakogenomskim pristopom je izvedla študijo zdravih prostovoljcev, vključujoč analizo transkriptoma z inovativno bioinformatično metodo matrične faktorizacije. Z zlitjem eksperimentalnih in javno dostopnih podatkov je napovedala vpletenost TPMT v endogene biološke procese. Ugotovitve je podprla s poskusi *in vitro*.

Doktorsko delo je rezultat večletnih prizadevanj in sodelovanja raziskovalcev iz akademskih ter kliničnih ustanov doma in v tujini in vključuje strokovnjake Fakultete za farmacijo, Pediatrične klinike UKC, Estonskega genomskega centra Univerze v Tartuju, Univerze v Tel-Avivu, *spin-off* podjetja Genialis d.o.o. in drugih.

Raziskave predstavljajo tri že objavljene članke z velikim dejavnikom vpliva (3.5–4.7), dva v procesu objave in dva v slovenskih strokovnih revijah.

dr. Andreja Čufar, mag. farm., spec.

NAČRTOVANJE DEJAVNOSTI KLINIČNE FARMACIJE V BOLNIŠNICI S POMOČJO METOD UMETNE INTELIGENCE

Mentor: prof. dr. Aleš Mrhar, mag. farm.

Somentor: izr. prof. dr. Marko Robnik-Šikonja

Andreja Čufar je v svoji doktorski disertaciji prikazala možnosti za nov pristop k upravljanju s človeškimi viri v zdravstveni organizaciji s ciljem, kako identificirati aktivnosti kliničnih farmacevtov, ki bodo imele največji vpliv na zadovoljstvo zdravnikov in medicinskih sester s storitvijo klinične farmacije v izbrani zdravstveni organizaciji.

Doktorandka je prikazala, kako lahko z uporabo algoritma OrdEval izkoriščamo informacije, skrite v urejenih razredih in vrednostih atributov, kakor tudi njihove soodvisnosti na majhnem vzorcu pomembnih udeležencev raziskave. Aktivnosti oziroma kompetence kliničnih farmacevtov je razvrstila v skladu s Kanovim modelom. Izmed 52 aktivnosti in kompetenc kliničnih farmacevtov je identificirala sedem takih, ki lahko negativno vplivajo na celotno zadovoljstvo s klinično farmacijo in dve z izrazito pozitivnim vplivom.

Algoritma za ocenjevanje spremenljivk ReliefF in MDL sta se izkazala kot primerna za identifikacijo najpomembnejših aktivnosti/kompetenc kliničnih farmacevtov z vidika pričakovanega vpliva na zadovoljstvo uporabnikov s celotno storitvijo klinične farmacije. Ugotovitve so v pomoč pri uvažanju dejavnosti klinične farmacije v bolnišnicah.

Ker klinična farmacija sodi med znanstvena področja, kjer v večini primerov ni mogoče zagotoviti velikega vzorca, je smiselno uporabiti metode, ki so primerne za analizo majhnih vzorcev, obenem pa zagotavljajo ustrezno napovedno moč raziskave. Temu kriteriju ustrezajo nekatere novejšie metode podatkovnega rudarjenja. Le-te so bile v predloženi doktorski disertaciji uspešno implementirane, česar do sedaj v literaturi še niso opisali. Predložena disertacija zato z metodološkimi pristopi in dobljenimi rezultati predstavlja pomemben izvorni prispevek k znanosti na področju upravljanju s človeškimi viri v zdravstveni organizaciji.

dr. Boštjan Martinc, mag. farm.

SPREMLJANJE ZDRAVLJENJA EPILEPSIJE Z ZDRAVILI IN VLOGA NEKATERIH KAZALCEV OKSIDATIVNEGA STRESA

Mentor: izr. prof. dr. Tomaž Vovk, mag. farm.

Epilepsija je bolezensko stanje, pri katerem se ponavljajo večinoma spontani epileptični napadi. Mehanizme nastanka in napredovanja bolezni slabo poznamo, zdravljenje pa v večini primerov poteka simptomatsko s pomočjo protiepileptičnih učinkovin. Doktorandovo delo lahko razdelimo v dva sklopa. V prvem sklopu je razvil analizno metodo za terapevtsko spremljanje koncentracij novejših protiepileptičnih učinkovin v plazmi bolnikov ter metodi za določanje vsebnosti in hitrosti sproščanja protiepileptičnih učinkovin iz farmacevtskih oblik. V drugem sklopu je na osnovi metaanalize objavljenih kliničnih raziskav ter lastne klinične raziskave proučil označevalce oksidativnega stresa v epilepsiji.

Doktorand je ugotovil, da razvita in validirana derivatizacijska kromatografska metoda za sočasno določanje gabapentina, pregabalina, vigabatrina in topiramata omogoča določanje njihovih plazemskih koncentracij in je zato primerna za terapevtsko spremljanje koncentracij učinkovin



pri bolnikih. Kromatografska metoda za določanje pregalina in spektrofluorimetrična metoda za določanje analogov γ -amino butirne kisline na mikrotitrskih ploščicah s pomočjo derivatizacije sta enostavni, hitri ter primerni za določanje vsebnosti in hitrosti sproščanja učinkovin iz farmacevtskih oblik. Z izvedeno klinično raziskavo in metaanalizo je ugotovil povečanje oksidativnih poškodb bioloških makromolekul in spremenjeno aktivnost encimskih antioksidantov pri zdravljenih bolnikih z epilepsijo v primerjavi z zdravimi prostovoljci. Poleg tega je dokazal, da pri bolnikih z epilepsijo, ki jih zdravimo s predstavniki starejše generacije, v primerjavi z bolniki, ki jih zdravimo s predstavniki novejše generacije protiepileptičnih zdravil, prihaja do značilnih sprememb v aktivnosti encimskih antioksidantov ter povečanja poškodb bioloških makromolekul in metabolizma dušikovega oksida.

Te ugotovitve potrjujejo hipotezo o povečanem obsegu oksidativnega stresa v primeru bolnikov z epilepsijo, zdravljenih s starejšo generacijo protiepileptičnih zdravil. Rezultati raziskav doktorskega dela so vidni in so mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz doktorandove bibliografije.

dr. Maja Radivojša Matanović, mag. farm. RAZVOJ IN VREDNOTENJE TEMPERATURNO ODZIVNIH HIDROGELOV Z NANOKOMPLEKSI ZA SUBKUTANO PODALJŠANO SPROŠČANJE HEPARINA

Mentorica: doc. dr. Pegi Ahlin Grabnar, mag. farm.
Somentorica: izr. prof. dr. Iztok Grabnar, mag. farm.

Področje doktorske disertacije Maje Radivojša Matanović so napredni dostavni sistemi za podkožno dajanje heparina. Heparin je antikoagulacijska zdravilna učinkovina, ki jo pogosto uporabljamo za zdravljenje in preprečevanje različnih tromboemboličnih bolezni, predvsem globoke venske tromboze in pljučne embolije. Apliciramo jo lahko le z injiciranjem, in sicer večkrat na dan, kar je s stališča pacienta zelo neugodno.

V doktorski disertaciji je doktorandka razvila in temeljito ovrednotila dostavni sistem za podaljšano sproščanje he-

parina, ki temelji na temperaturno odzivnih hidrogelih. Pokazala je, da je z izbiro ustreznih polimerov mogoče izdelati formulacijo, ki je na sobni temperaturi tekoča in jo lahko injiciramo, pod kožo pa tvori poltrden hidrogel, ki omogoča podaljšano sproščanje heparina. Dodatno upočasnitev sproščanja heparina je dosegla z njegovo vključitvijo v nanokomplekse s hitosanom. Prav kombinacija temperaturno odzivnih hidrogelov in pH-odzivnih hitosanskih nanokompleksov predstavlja njen izvorni prispevek k znanosti. Ugotovitve *in vitro* raziskav je nadgradila s proučevanjem citotoksičnosti formulacij na celičnih kulturah in pokazala, da ne zavirajo celične proliferacije. Osrednji del njenih raziskav je bil usmerjen v *in vivo* testiranje formulacij na podganah. Dokazala je petdnevno prisotnost preventivnih koncentracij heparina v krvi in s tem potrdila, da lahko takšni sistemi omogočijo manj pogosto odmerjanje in s tem za kronične bolnike prijaznejše zdravljenje.

Rezultati raziskav doktorskega dela so vidni in so mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz doktorandkine bibliografije.

dr. Ana Herman, mag. farm.

MIKRO RNA V PLAZEMSKIH VZORCIH ZDRAVIH OSEB IN BOLNIKOV Z MALIGNIM GLIOMOM

Mentor: izr. prof. dr. Matjaž Jeras, mag. farm.
Somentorica: prof. dr. Kristina Gruden

Najpomembnejši izvorni prispevki doktorskega dela Ane Herman k proučevanju vloge plazemskih mikro RNA (miRNA) pri glioblastomu so:

- odkritje 19 miRNA s potencialnim diagnostičnim ter 24 miRNA s potencialnim prognostičnim pomenom ter med temi opredelitev 10 s kombiniranim diagnostičnim in prognostičnim potencialom, med katerimi izstopata hsa-miR-592 in hsa-miR-514a-3p, ki ju doslej še niso povezovali z glioblastomom;
- detekcija 11 virusnih miRNA, diferencialno izraženih v plazemskih vzorcih bolnikov in zdravih oseb, ki sodelujejo v raznolikih, zlasti imunsko pogojenih mehanizmih, sposobnih podpiranja tumorske rasti;
- odkritje povezave med skupino ribosomskih proteinov, med katerimi izstopa RPS2, ki ga do sedaj še niso po-

vezovali z glioblastomom, ter diferencialno izraženimi miRNA, in sicer s pomočjo inovativne uporabe bioinformatičnega orodja Segmine®.

Rezultati doktorskega dela Ane Herman predstavljajo pomemben prispevek k znanosti na področju raziskovanja miRNA in njihove uporabe pri diagnozi, prognozi in zdravljenju glioblastoma.

dr. Katja Čerpnjak, mag. farm.

SOLUBILIZACIJA SLABO TOPNE UČINKOVINE S SAMO- MIKROEMULGIRAJOČIMI SISTEMI VGRAJENIMI V TRDNE FARMACEVTSKE OBLIKE

Mentorica: prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

Somentor: prof. dr. Franc Vrečer, mag. farm.

Področje doktorske disertacije Katje Čerpnjak so na lipidih osnovani samomikroemulgirajoči sistemi (SMES) za solubilizacijo slabo vodotopnih učinkovin. Topnost učinkovin je eden od najbolj pomembnih dejavnikov za zagotavljanje ustrezne terapevtske koncentracije in ker je kar do 70 % na novo odkritih učinkovin slabo vodotopnih, so ti pristopi ključnega pomena pri razvoju zdravil. Ker so klasični SMES tekoče oblike, ki izkazujejo probleme s kompatibilnostjo, stabilnostjo in velikimi proizvodnimi stroški, je bil namen doktorskega dela predvsem pretvorba tekočih SMES v trdne farmacevtske oblike. Za modelno učinkovino smo izbrali slabo topen nesteroidni antirevmatik naproksen.

Doktorandka se je v uvodnem delu doktorske disertacije osredotočila na razvoj in vrednotenje tekočih SMES s ciljem izbrati formulacijo, ki bo izkazovala najboljše samomikroemulgirajoče lastnosti in zagotavljala maksimalno količino vgrajenega naproksena. Rezultati *in vitro* sproščanja so potrdili postavljeno hipotezo, da z vgradnjo naproksena v SMES značilno izboljšamo tako obseg kot tudi hitrost sproščanja. V drugem delu se je s ciljem združitve prednosti tekočih SMES in trdnih farmacevtskih oblik lotila razvoja trdnih SMES. Preizkusila je različne metode solidifikacije (sušenje z razprševanjem, adsorpcijo na trdne nosilce, granuliranje s talinami). Metode je primerjalno ovrednotila in kot metodo izbora izbrala sušenje z razprševanjem. S pomočjo metod načrtovanja eksperimentov je vrednotila vpliv procesnih parametrov sušenja z razprševanjem na samomikroemulgirajoče lastnosti in izkoristek procesa, kar ji je omogočilo optimizacijo tehnološkega procesa. Raziskave je nadgradila s proučevanjem vpliva nosilcev in koncentracije vgrajene zdravilne učinkovine na ključne lastnosti trdnih SMES. Za proučevanje tega segmenta je uporabila naj-sodobnejše metode, med njimi tudi Ramansko mapiranje. V zadnjem delu naloge se je osredotočila na izdelavo tablet in minitabelet, izdelanih iz SMES prahov.

Rezultati doktorske naloge so mednarodno primerljivi in objavljeni v štirih člankih z dejavnikom vpliva. Doktorandkin izvirni prispevek k znanosti je predvsem poglobljena študija načrtovanja in razumevanja vpliva različnih metod, pomožnih snovi in koncentracije učinkovine na nastanek SMES s ciljnimi fizikalno-kemijskimi in biofarmacevtskimi lastnostmi izdelka, kar podpira tehnološko konkurenčnost trdnih SMES za izboljšanje solubilizacije slabo topnih učinkovin.





OSEBNE VESTI

PERSONAL NEWS

PROF. DR. ALEŠ KRBAVČIČ – 80-LETNIK

Franc Kozjek

Skromno, kot je tudi sam, je prof. Aleš Krbavčič na začetku letošnjega leta praznoval svoj 80. rojstni dan. 80 let plodnega življenja, ki ga je posvetil farmaciji, kjer je našel pogoje in možnosti za razvoj svoje nadarjenosti za znanstveno raziskovalno delo na področju farmacevtske kemije. Že v času študija na Farmaceutski fakulteti v Zagrebu se je vključil v raziskovalno skupino na Katedri za organsko kemijo in to delo nadaljeval po diplomu na ljubljanski Fakulteti za naravoslovje in tehnologijo, kot asistent na Odseku za farmacijo. Tu je tudi pripravil svojo doktorsko delo in bil kot prvi farmacevt na Univerzi v Ljubljani leta 1965 promoviran za doktorja kemijskih znanosti.

Prof. Krbavčič je resnično izreden znanstvenik in vesel in ponosen sem, da sem imel priliko sodelovati z njim vsa leta njegovega aktivnega delovanja. In še več, prav njemu se moram zahvaliti, da sem spoznal vrednost znanja. To se je zgodilo v času skupnega pripravljanja na izpit iz farmacevtske kemije pri prof. Barkoviću, ki je veljal za enega najtežjih izpitov na zagrebški Farmaceutski fakulteti. Aleš me je prepričal, da študij ni samo opravljanje izpitov, temveč resna priprava na poklic, za katerega smo se odločili. Zato učne snovi ni dovolj samo memorirati, temveč jo je potrebno povezati z vsem, kar smo se že učili in kar se še bomo morali naučiti. Pri tem je bil natančen in neizpros, predvsem do sebe.

Zato ni čudno, da je postal po obsegu znanj, ki jih ima, nedosegljiv in tako, po mojem mnenju, utemeljitelj farmacije kot znanstvene vede na Univerzi v Ljubljani. Cenijo ga ne samo farmacevti, temveč tudi kemiki, zdravniki, zgo-



dovinarji in drugi znanstveniki, saj vedo, kako široko je njegovo znanje na omenjenih področjih. S tem me vedno znova preseneti. Ko se znajdem v zagati in zaman iščem kakšen podatek, se vedno obrnem na Aleša, ki mi z veseljem pomaga. Pripravi mi celo poročilo, podkrepljeno z literaturnimi podatki in dokazi, kar mi močno olajša delo. A ne samo meni, tudi z drugimi deli svoje znanje in jim pomaga pri pripravljanju diplom, magisterijev, doktoratov pa tudi člankov.

Sodeluje tudi z Znanstveno raziskovalnim centrom SAZU, kjer je pomagal pri pripravi Enciklopedije Slovenije in več zgodovinskih knjig, ki jih je izdal omenjeni Center. Zgodovino farmacije in medicine ima še posebno rad. Tu je pravi vir znanja in škoda bi bilo, da ga ne bi izkoristil za pripravo knjige o razvoju farmacije na Slovenskem. S tem bi ohranil znanecem mnogo pomembnih podatkov o začetkih lekarništva, podjetništva in izobraževanja na področju »naše farmacije«. Pri tem bi lahko opozoril tudi na lepo slovenščino v strokovnem izrazoslovju, za katero si nenehno prizadeva. To je že večkrat storil, zlasti pri pripravi slovenske farmakopeje, slovenskega dodatka k Evropski farmakopeji, za-

konskih predpisov o zdravilih, farmacevtskem tehnološkem slovarju in drugem.

Seveda pa je k razvoju strokovno-znanstveno raziskovalnega dela s področja farmacije v Sloveniji veliko prispeval tudi z dolgoletnim vodenjem uredništva Farmacevtskega vestnika. Ta je pod njegovim urednikovanjem postal iz strokovnega glasila mednarodno priznana strokovno-znanstvena revija. Čeprav so mu farmacevti velikokrat očitali,

da je revija praktično le malo uporabna, je ostal neomajen pri zagovarjanju visokih standardov pri objavljanju raziskovalnih del. Zato smo mu zelo hvaležni mnogi farmacevti, ki smo svoje prve strokovno znanstvene prispevke lahko objavljali tudi doma.

Upajmo, da bo še dolgo med nami in nas s svojo kritično miselnostjo opozarjal na pomen znanja pri uveljavljanju naše stroke.



V SPOMIN MILOŠU KOVAČIČU

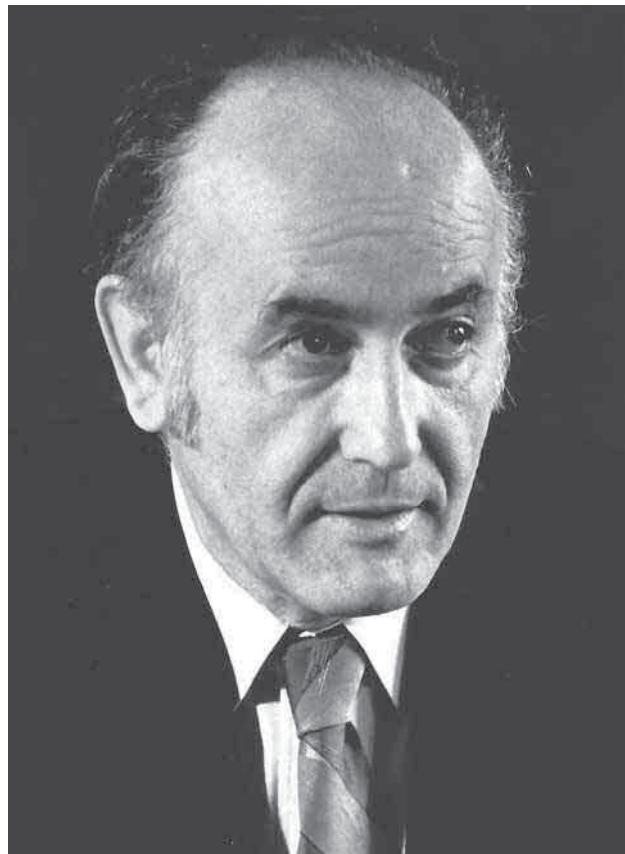
Franc Kozjek

Jeseni leta 1958 sem skupaj z drugo generacijo študentov farmacije ljubljanske univerze prišel v tretji letnik Farmaceutsko-biokemične fakultete v Zagrebu. Na zagrebški farmaceutski fakulteti sem bil torej novinec, bruc, Miloš pa je bil že absolvent. Še vedno se spomnim, kako je nekega dne prikorakal v »naš podrum«, študentske prostore, kjer smo se srečevali, učili in zabavali. Ustavil se je v predddverju ob mizi za namizni tenis in opazoval, kako nas je drugega za drugim premagoval naš kolega Dragan in pri tem ni skrival svojega zadovoljstva. Končno se je v igro vključil tudi sam in pokazal nekaj svojih spretnosti v igri. Dragan ga je takoj izzval na dvoboj in Miloš ga je hitro premagal. Jezen je Dragan zahteval ponovitev, Miloš pa mu je odgovoril, da z njim lahko igra samo še z levo roko. Z neverjetno lahkoto ga je premagal tudi v drugo, saj je bil enako spreten z obema rokama.

Tako sem spoznal Miloša kot športnika. Mirnega, samozavestnega in zmagovalnega. In ne samo v namiznem tenisu, kjer je bil univerzitetni prvak Jugoslavije, temveč tudi v vaterpolu in košarki je rad sodeloval. Na mnogih najinih srečanjih se je rad spominjal tekem, s katerimi smo si priborili z ekipo farmaceutske fakultete naslov univerzitetnega prvaka Zagreba. Naklonjenost košarki je pokazal tudi kasneje, kot predsednik košarkarskega kluba Smelt Olimpija in ustanovitelj košarkarskega kluba Krka.

Po diplomi smo se vsi malo porazgubili, vendar zopet naši v Slovenskem farmaceutskem društvu. Starejši kolegi farmaceuti so v Milošu hitro prepoznali voditeljske sposobnosti, zato ni čudno, da je bil že leta 1962 izvoljen za predsednika društva in na tem mestu ostal vrsto let. Okoli sebe je zbral nas mlajše kolege, da bi mu pomagali razrešiti v tem času ne najboljše razmere v naši stroki. Farmaceutski študij v Ljubljani je bil še v povojih, farmaceutska industrija razdrobljena in brez jasnih ciljev razvoja, lekarniška služba pa zaradi pomanjkanja farmaceutskih kadrov slabo organizirana. Poti nadaljnjega razvoja farmacije v Sloveniji so si kolegi predstavljali na različne načine, kar je povzročalo v stroki manjše spore.

Miloš, neobremenjen s preteklostjo, naj bi te spore zgladil in farmaceutsko stroko uveljavil na Slovenskem in širšem področju kot pomembno znanstveno in industrijsko dejavnost. Kot predsednik Slovenskega farmaceutskega društva, član upravnega odbora Fakultete za naravoslovje in



tehnologijo, kamor je spadal tudi Odsek za farmacijo, in kot svetovalec v združenju Farmis je to svojo vlogo odlično opravil. Odločno se je zavzel za popoln študij farmacije v Ljubljani, za uveljavitev Zavoda za farmacijo kot osrednje nadzorne in strokovno izobraževalne institucije v Sloveniji in tudi za združitev Leka in Krke v močno farmaceutsko tovarno Farmis. In v vsem je uspel, razen v naporih, da bi Lek in Krka ostala združena. Po dveh letih skupnega delovanja sta se tovarni zopet ločili. Miloš je odšel v Novo mesto in tu začel svojo uspešno kariero, sprva kot komercialni in nato generalni direktor tovarne zdravil Krka.

Še vedno pa je obdržal svoje karakterne značilnosti: zbravnost in osredotočenost na določene cilje, upornost pri njihovem doseganju in sposobnost pridobivanja ljudi za doseganje teh ciljev. Z neverjetno lahkoto je navezoval stike s sodelavci in poslovnimi partnerji. Zato je imel veliko prijateljev in znancev, s katerimi se je rad poveselil. Pri tem pa se je zavedal svoje moči in odgovornosti. Kako spretno je opravljal naloge direktorja, sem spoznal ob priložnosti, ko ga je njegov prijatelj in kolega prosil za denarno pomoč njegovemu smučarskemu klubu. Ni mu rekel ne, temveč ga je pobaral, s kom v Krki poslovno sodeluje. Ko mu je



le-ta omenil enega od sodelavcev Krke, mu je Miloš mirno svetoval, naj se obrne nanj, ker bo znal najbolje oceniti vrednost pomoči smučarskemu klubu. Ne vem, ali je bila pomoč realizirana ali ne, vendar sta bili obe strani zadovoljni in prijateljstvo je ostalo.

Imel je prijatelje po vsem svetu. Z lahkoto so se mu odprla mnoga vrata. Zlasti je bil priljubljen v republikah bivše Jugoslavije. Vrsto let je bil predsednik Zveze farmacevtskih

društev Jugoslavije in Združenja farmacevtske industrije Jugoslavije. Za svoje delo je prejel številna priznanja doma in v tujini. Razveselil pa se je zlasti najvišjega društvenega priznanja Minařikovega odličja, ki mu ga je leta 1991 kot zahvalo za ves trud in prispevek k napredku farmacevtske stroke podelilo Slovensko farmacevtsko društvo.

Miloš, hvala in vedi, nihče ne zapusti tega sveta, dokler se ga ljudje radi spominjajo.



MOJI SPOMINI NA MILOŠA KOVAČIČA

Eli Rustja

Z Milošem Kovačičem sva sodelovala vse moje delovno obdobje v Krki od leta 1962 do moje upokojitve leta 1998. Miloš je bil najprej komercialni direktor, od leta 1985 predsednik poslovnega odbora, leta 1989 pa je postal generalni direktor Krke in predsednik uprave. Jaz pa sem se po kratkem obdobju dela v farmacevtski proizvodnji leta 1965 usmerila v razvoj. Vodila sem področje razvoja novih proizvodov, nato pa prevzela vodenje celotnega Sektorja za raziskave in razvoj.

Z Milošem sva skupaj prepotovala velik del sveta. Delo z njim je bil izziv in privilegij. Bil je rojen vodja z odličnim spominom. Ni se spuščal v podrobnosti. Dobro je poznal naše strokovne sposobnosti in značajske prednosti oziroma šibkosti. Ob njem smo lahko razvijali svoje sposobnosti. Tako se je v Krki oblikoval učinkovit strokovni in vodstveni tim, ki je odločilno prispeval k razvoju in rasti Krke.

Pomembno obdobje najinega skupnega dela je bilo obdobje sodelovanja z vodilnimi farmacevtskimi koncerni iz zahodne Evrope, ZDA in Japonske. To je bilo licenčno obdobje, v katerem je Krka ustvarila trdne temelje za svojo rast. Od licenčnih partnerjev smo prevzemali v registracijo, proizvodnjo in trženje njihove nove proizvode in jih tržili na svojih tradicionalnih trgih. V sodelovanju z licenčnimi partnerji smo osvajali nova znanja s področja proizvodnje, kontrole kakovosti in marketinga. Ta znanja so bila trden temelj za bodoči razvoj lastne generike.

Miloš ni bil obremenjen z majhnostjo Krke. V razgovorih s tujimi partnerji je odlično izkoriščal vse naše prednosti v poznavanju trgov takratne Jugoslavije, jugovzhodne Evrope in Rusije ter v poznavanju ključnih ljudi s področij farmacije in zdravstva. S svojo poslovno spretnostjo in osebnim šarmom je prepričal še najbolj zadržane partnerje. Najbolj je tuje partnerje zanimala Rusija. To pa je dežela, ki jo je imel Miloš najraje. Ruske partnerje je vedno pritegnil s svojo neposrednostjo, značilnim humorjem in simpatijo, ki jo je gojil do te dežele in njenih ljudi. To so ruski partnerji čutili in so radi sodelovali z njim. Iz Rusije je poleg novih naročil prinašal vedno nove zgodbe. Prinesel je tudi način druženja, kjer je bil Miloš *tamada*, kar pomeni vodja srečanja. To je odlično za večje omizje, kjer ne morejo govoriti vsi povprek, ampak *tamada* daje besedo, da lahko poveže svojo misel ali zgodbo. To mi je bilo zelo všeč.

Miloš pa je bil tudi odličen gostitelj. Preživljanje otroštva v Šentjerneju ga je za vedno zaznamovalo. Tu je bil doma, tu je bil srečen in tako je čutil širšo Dolenjsko. Srečanja s poslovnimi partnerji je najraje organiziral na Gradu Otočec in v Krkini zidanici na Trški gori. S ponosom je partnerje odpeljal v Pleterje, v Kostonjevo na Krki, včasih pa tudi v svojo zidanico v Vrbovce nad Šentjernejem. V srečanja s partnerji je pogosto vključil Šentjernejski oktet. Odličen pevski zbor je prepeval njegove najljubše pesmi, in sicer Zlati laski, Dvanajst razbojnikov in druge. Ta zbor je odpeljal tudi v Moskvo. Sicer pa si je ob drugih prilikah z mnogo nostalgije zaželel pesem Bele ruže, pesem Iztoka Mlakarja Brajde in znane ruske pesmi. V takem razpoloženju smo spoznavali bogastvo Miloševe duše. Moj prijatelj novinar ga je imenoval »poslednji romantik med poslovneži«.

Večkrat smo se spraševali, od kod Milošu toliko energije. Polnil je »baterije« v prelepi Dolenjski, na njenih gričih in med preprostimi ljudmi. Rad je imel ljudi in bil je odprt do njih. Bil je velik optimist.

Potovanja z Milošem so bila vedno nekaj posebnega. Med mnogimi se vedno znova spominjam svojega prvega potovanja na Japonsko leta 1978. Bili smo trije: Miloš, dr. Hönigsman in jaz. Japonci takrat še niso razumeli, da je ženska v hierarhiji lahko tako visoko. Miloš se je zabaval ob njihovem presenečenju in za vsako vprašanje, vezano na strokovno razpravo o izdelkih in o njihovi registraciji, spraševal mene. Ko sem mu jaz »razložila«, je odgovarjal japonskim sogovornikom. Njemu to ni zmanjšalo ugleda v njihovih očeh, mene pa je zelo povzdignilo.

Sicer pa je bil Miloš odlično informiran. Dnevno je bil v telefonskih stikih s številnimi ljudmi, med njimi tudi z dvema odličnima prijateljskima židovskega porekla iz Amsterdama iz podjetja Philipp Brothers. To podjetje je že zelo zgodaj trgovalo na področju farmacevtskih učinkovin s Kitajsko, Indijo, ZDA, Anglijo in Rusijo. Direktor te firme, g. Gerard Klein, je eden največjih trgovcev na svetu s plemenitimi kovinami. Za 60. rojstni dan je Milošu podaril posebno darilo; v parku Ane Frank v Jeruzalemu so mu posadili 60 dreves.

Dobro razumevanje globalnih sprememb v svetovni farmacevtski industriji je bilo osnova za pomembne Krkine strateške odločitve za razvoj lastnih generičnih proizvodov pod lastno blagovno znamko. S svojimi bogatimi izkušnjami, vizijo in strateškim razmišljanjem je Miloš odločilno vplival na razvoj moderne farmacevtske tovarne v Novem mestu. Pod njegovim vodstvom smo zgradili sodobne obrate farmacevtske proizvodnje, laboratorije za kontrolo



surovin in končnih proizvodov. Zgradili smo sodobne laboratorije za razvoj farmacevtskih tehnologij in postopkov za kontrolo in vrednotenje kakovosti učinkovin in končnih proizvodov. Krka je intenzivno vlagala v razvoj strokovnih kadrov. Sodelovali smo s centri znanja, s fakultetami in klinikami, doma in v svetu. Miloš je nadaljeval s tradicijo Krkinih nagrad, preko katerih so nastale pomembne vezi z mladimi znanstveniki in njihovimi mentorji. Poleg sodobne farmacevtske tovarne v Novem mestu smo v Sloveniji zgradili nove proizvodne obrate v Ljutomeru in Šentjerneju.

Da bi dolgoročno utrdila svoj položaj v deželah jugovzhodne Evrope in v Rusiji, je Krka zgradila sodobne proizvodne obrate v Rusiji, na Poljskem in na Hrvaškem. Nadaljevanje strateškega razmišljanja je bila tudi izgradnja obrata za sintezo učinkovin v Novem mestu, kar je omogočilo vertikalno

integrirano proizvodnjo v Krki. To je pomembna konkurenčna prednost Krke danes.

Ob intenzivnem vlaganju v Krko pa je imel Miloš velik posluš tudi za kulturo in šport v domačem okolju in širše. Ni se zapiral v občinske meje. Podpiral je razna društva, dogodke in posameznike. Gledal je široko, gledal je s srcem.

Novo vodstvo v Krki se zaveda bogate dediščine, ki so jo prejeli. Dosežke in usmeritve iz obdobja Miloša Kovačiča uspešno nadaljujejo in nadgrajujejo.

Pri pisanju teh spominov me zelo boli, da pišem v preteklem času. Žal Miloša ni več med nami. Ostal bo neizbrisen spomin na njegovo izjemno osebnost in njegovo delo, ki obvezuje tudi nove generacije k ustvarjalnosti in uspešnemu razvoju tovarne Krka v tej lepi pokrajini ob dolini reke Krke.



V SPOMIN ALENKI SUPE

Ljubica Lovišček

v imenu sodelavcev Lekarn Maribor in članov
Mariborske podružnice (MP) SFD

Naša misel se je za trenutek ustavila, ko nas je dosegla vest, da je nekaj dni po rojstvu novega leta 2016 za vedno zatisnila oči naša spoštovana upokojenka in dolgoletna članica MP SFD Alenka Supe, mag. farm.

Na farmacevtsko pot se je Alenka, uradno Helena Papov, podala z vpisom na farmacevtsko fakulteto v Zagrebu, diplomirala je v maju leta 1962. Po opravljenem enoletnem pripravništvu oz. stažu je opravljala več let delo diplomirane farmacevta receptarja v lekarni Center. V njeni kartoteki preberemo še, da je tri leta opravljala delo šefa oficine, nazadnje pa je z zavzetostjo in ob zadovoljstvu zaposlenih tudi prevzela vodenje lekarne Center ter kolektiv uspešno vodila več mandatov do upokojitve konec leta 1998.

Lekarna Center je bila v času njenega vodenja ena večjih v zdravstvenem zavodu Mariborske lekarne Maribor, v lekarni je bilo zaposlenih več kot dvajset oseb. Lekarna Center je bila neposredno povezana s takratnim galenskim laboratorijem, tako da so prav zaposleni v lekarni Center skupaj z upravnico magistro Alenko omogočali osnovni stik med potrebami uporabnikov in razvojem galenskih izdelkov v laboratoriju. Ob lekarni Center pa je zrasel tudi grosistični oddelek Farmadent, tako sta bila lekarna in Farmadent v večkratnih dnevnikih stikih in defektura zdravil je bila v lekarni Center tako res bolj izjema kot praksa. Magistra Alenka si je nenehno prizadevala, da uporabniki niso zapuščali lekarne brez potrebnih zdravil. Pacienti so bili vedno deležni velike naklonjenosti, pozornosti ter prijazne in tople besede s strani magistre Alenke.

Lekarna Center pod taktirko mag. Alenke ni bila centralna lekarna le po imenu, ampak je v resnici dajala smernice naši dejavnosti v Mariboru in bilo je čutiti njen vpliv tudi izven regije. Pogosto je v lekarni Center ob magistri Alenki našel svoje zatočišče tudi naš profesor, magister Franc Minařik.

Mag. Alenka je bila tudi prijazna in dosledna mentorica mlajšim kolegom, ki so se nato pogosto izkazali tudi na drugih delovnih mestih. Vsa leta je skrbela za svoj strokovni razvoj in usposabljanje zaposlenih v kolektivu. Ko se je vodstvo odločilo za temeljito prenavo lekarne Center ob koncu leta 1998, pa se je mag. Alenka odločila, da zaključi



svojo poklicno pot. Po upokojitvi je več časa namenjala tudi svoji družini in vnukoma, med nas pa prav pogosto ni več zahajala.

Magistra Alenka, čeprav smo se v začetku januarja za vedno poslovili od tebe, si pustila v vseh nas, ki smo bili del tvoje lekarniške poti, del sebe in hkrati zavezo, da se posvečamo našim uporabnikom iskreno in temeljito, kot si nam to pokazala ti.

Hvala ti za vse.





GAZYVARO® je edino monoklonsko protitelo z dokazano večjo učinkovitostjo kot MabThera® pri predhodno nezdravljenih bolnikih s kronično limfocitno levkemijo.¹

ZASNOVAN ZA NAPREDEK

G
GAZYVARO ▼
 obinutuzumab

Referenca: 1. Goede V, Fischer K, Busch R, et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. N Engl J Med 2014;370(12):1101-1110.

Skrajšan povzetek glavnih značilnosti zdravila GAZYVARO® (obinutuzumab) 1000 mg koncentrat za raztopino za infundiranje

Za to zdravilo se izvaja dodatno spremljanje varnosti. Tako bodo hitreje na voljo nove informacije o njegovi varnosti. Zdravstvene delavce naprošamo, da poročajo o katerem koli domnevnem neželenem učinku zdravila. Kako poročati o neželenih učinkih, si pogledajte skrajšani povzetek glavnih značilnosti zdravila pod "Poročanje o domnevnih neželenih učinkih".

Ime zdravila: Gazyvaro 1000 mg koncentrat za raztopino za infundiranje. **Kakovostna in količinska sestava:** Ena viala s 40 ml koncentrata vsebuje 1000 mg obinutuzumaba; to ustreza koncentraciji 25 mg/ml pred razredčenjem. Obinutuzumab je humanizirano anti-CD20 monoklonsko protitelo tipa II podzreda IgG1, pridobljeno s humanizacijo parentalnega mišjega protitelesa B-Ly1 in proizvedeno v celični liniji jajčnika kitajskega hrčka s tehnologijo rekombinantne DNA. **Terapevtske indikacije:** Zdravilo Gazyvaro je v kombinaciji s klorambucilom indicirano za zdravljenje odraslih bolnikov s predhodno nezdravljeno kronično limfocitno levkemijo (KLL), pri katerih zdravljenje s polnim odmerkom fludarabina zaradi pridruženih bolezni ni primerno. **Odmerjanje in način uporabe:** Dajanje zdravila Gazyvaro mora potekati pod natančnim nadzorom izkušenega zdravnika in v okoliju, kjer je takoj na voljo vse potrebno za oživljanje. **Odmerjanje, profilaksa in premedikacija sindroma razpada tumorja:** Bolniki z velikim tumorskim bremenom in/ali velikim številom limfocitov v krvnem obtoku in/ali ledvično okvaro imajo večje tveganje za sindrom razpada tumorja in morajo prejeti profilakso. To naj sestavljata ustrezna hidracija in dajanje urikatstikov ali primerno alternativno zdravljenje, kot je uratna oksidaza. **Profilaksa reakcij, povezanih z infuzijo, in premedikacija zanje:** Med intravenskim infundiranjem zdravila Gazyvaro se lahko kot simptom reakcij, povezanih z infuzijo, pojavi hipotenzija. Zato je treba uporabo antihipertenzivnih zdravil zadržati v obdobju 12 ur pred infundiranjem zdravila Gazyvaro, med celotnim infundiranjem in še prvo uro po koncu dajanja zdravila. **Odmerke:** 1. ciklus: Priporočeni odmerke zdravila Gazyvaro je 1000 mg, ki ga dajemo na 1. in 2. dan ter 8. in 15. dan prvega 28-dnevnega ciklusa zdravljenja. Za infundiranje 1. in 2. dan je treba pripraviti dve infuzijski vrečki (100 mg za 1. dan in 900 mg za 2. dan). Če med dajanjem prve vrečke ni bilo treba prilagoditi hitrosti infundiranja ali infundiranja prekiniti, je mogoče drugo vrečko uporabiti isti dan. Pogoji je, da so na voljo ustrezen čas, oksičlone in zdravniški nadzor med celotnim infundiranjem. Če je med dajanjem prvih 100 mg treba spremeniti hitrost infundiranja ali infundiranja prekiniti, je treba drugo vrečko dati naslednji dan. **Od 2. do 6. ciklusa:** Priporočeni odmerke zdravila Gazyvaro je 1000 mg, uporabljen 1. dan. **Trajanje zdravljenja:** Šest ciklusoov zdravljenja, od katerih vsak traja 28 dni. **Zapaznelli ali izpuščeni odmerki:** V primeru, da bolnik načrtovani odmerke zdravila Gazyvaro izpusti, mu ga je treba dati čim prej, ne čakaje do naslednjega načrtovanega odmerka. Med odmerki je treba ohraniti načrtovani terapevtski interval za zdravilo Gazyvaro. **Prilagoditev odmerka zdravila Gazyvaro niso priporočljivi.** **Posebne skupine bolnikov:** **Starejšim bolnikom z blago do zmerno ledvično okvaro odmerka ni treba prilagoditi.** Varnost in učinkovitost zdravila Gazyvaro pri bolnikih z okvarjenim delovanjem jeter in pri otrocih in mladostnikih, mlajših od 18 let, nista ugotovljeni. **Podatkov ni na voljo. Način uporabe:** Zdravilo Gazyvaro je namenjeno za intravensko uporabo. Po razredčenju ga je treba dati kot intravensko infuzijo po posebni liniji. Infuzija zdravila Gazyvaro se ne sme dati v obliki hitre intravenske infuzije ali kot bolus. Navodila glede redčenja in hitrosti infuzije zdravila Gazyvaro pred uporabo so opisana v SmPC. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost za zdravilo učinkovino ali katero koli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** Za izboljšanje sledljivosti bioloških zdravil je treba zaščiteno ime in številko serije uporabljenega zdravila jasno zabeležiti v bolnikovi dokumentaciji. **Reakcije, povezane z infuzijo:** Najpogostejše opažene neželeni učinki pri bolnikih, ki so prejemale zdravilo Gazyvaro, so bile reakcije, povezane z infuzijo, ki so se pretežno pojavile med infundiranjem prvih 1000 mg. Za zmanjšanje reakcij, povezanih z infuzijo, je treba upoštevati ukrepe za ublažitve. Incidenca in izrazitost simptomov reakcij, povezanih z infuzijo, se je bistveno zmanjšala po infundiranju prvih 1000 mg in večina bolnikov med nadaljnjo uporabo zdravila Gazyvaro reakcij, povezanih z infuzijo, ni imela. Pri večini bolnikov so bile reakcije, povezane z infuzijo, blage do zmerno in jih je bilo mogoče obvladati z upočasnitvijo ali začasno prekinitvijo prvega infundiranja. Vendar pa so poročali tudi o hudih in življenje ogrožajočih reakcijah, povezanih z infuzijo, ki so zahtevale simptomatsko zdravljenje. Reakcije, povezane z infuzijo, so lahko klinično nerazločljive od alergijskih reakcij, posredovanih z imunoglobulini E (IgE). Bolniki z velikim tumorskim bremenom in bolniki, ki imajo hkrati kumulativno oceno bolezni po lestvici CIRSe > 6 in očitek kreatinina < 70 ml/min, imajo večje tveganje za reakcije, povezane z infuzijo, vključno s hudimi reakcijami, povezanimi z infuzijo. Med uporabo zdravila Gazyvaro so opisani tudi primeri sindroma sproščanja citokinov. Če se pri bolniku pojavi reakcija, povezana z infuzijo, je treba v zvezi z infundiranjem ukrepati glede na stopnjo reakcije. Bolniki ne smejo dobiti nadaljnjih infuzij zdravila Gazyvaro, če se pri njih pojavi oziroma pojavijo: akutni smrtno nevarni simptomi na dihalih, z infuzijo povezana reakcija 4. stopnje (tj. življenje ogrožajoča reakcija, povezana z infuzijo), ali ponova z infuzijo povezana reakcija 3. stopnje (podaljšana/ponovna) po ponovnem začetku prve infuzije ali med katero od nadaljnjih infuzij. Bolnike z obstoječo boleznijo srca ali pljuč je treba skrbno nadzorovati ves čas infundiranja in v obdobju po njem. Pri bolnikih z akutnim tveganjem za hipertenzivno krizo je treba oceniti tveganje in koristi zadržanja njihovih antihipertenzivnih zdravil. **Preobčutljivostne reakcije, vključno z anafilakso:** Pri bolnikih, zdravljenih z zdravilom Gazyvaro, so poročali o anafilaktičnih reakcijah. Pri sumu na preobčutljivostno reakcijo med infundiranjem je treba infundiranje prekiniti in zdravljenje trajno končati. Bolniki, ki imajo znano, z IgE posredovano preobčutljivost za obinutuzumab, se z njim ne sme zdraviti. **Sindrom razpada tumorja:** Med uporabo zdravila Gazyvaro so poročali o sindromu razpada tumorja. Bolniki z velikim tveganjem za sindrom razpada tumorja (npr. bolniki z velikim tumorskim bremenom in/ali velikim številom limfocitov v periferni krvi [$\geq 25 \times 10^9/l$] in/ali ledvično okvaro (očitek kreatinina < 70 ml/min)) morajo prejeti profilakso. To naj sestajata ustrezna hidracija in dajanje urikatstika (npr. alopurinola) ali primernega alternativnega zdravljenja, kot je uratna oksidaza (npr. rasburikaza), ki se začne 12 do 24 ur pred infundiranjem zdravila Gazyvaro v skladu s standardno prakso. Vse bolnike s tveganjem je treba pozorno spremljati med prvimi dnevi zdravljenja s posebno pozornostjo na ledvično delovanje, vrednosti kalija in sečne kisline. Dodatno je treba upoštevati morebitne dodatne smerice v skladu s standardno prakso. Med zdravljenjem sindroma razpada tumorja je treba odpraviti nepravilnosti elektrolitov, preverjati delovanje ledvic in ravnovesje tekočin ter uporabiti podporno oskrbo, vključno z dializnim zdravljenjem, kot je indicirano. **Nevtropenija:** Med zdravljenjem z zdravilom Gazyvaro so poročali o hudi in življenje ogrožajoči nevtropeniji, vključno s febrilno nevtropenijo. Bolnike, pri katerih se razvije nevtropenija, je treba skrbno nadzirati z rednimi laboratorijskimi kontrolami krvne slike, dokler ne mine. Če je potrebno zdravljenje, ga je treba uporabiti v skladu z lokalnimi smernicami in razmisli o uporabi granulocitne kolonije spodbujajočih faktorjev. Morebitne znake sočasne okužbe je treba zdraviti, kot je primerno. Pri hudi ali življenje ogrožajoči nevtropeniji je treba prekiniti zdravljenje in začeti zdravljenje na kasnejši čas. Za bolnike s hudo in dolgotrajno nevtropenijo je zelo priporočljivo dajanje protimikrobne profilakse med zdravljenjem dokler se nevtropenija ne izboljša na stopnjo 1 ali 2. Razmisli tudi o protivirusni in protiglivični profilaksi. Poročali so tudi o primerih zapoznele nevtropenije ali dolgotrajne nevtropenije. Bolniki z ledvično okvaro imajo večje tveganje za nevtropenijo. **Trombocitopenija:** Med zdravljenjem z zdravilom Gazyvaro so opažali hudo in življenje ogrožajočo trombocitopenijo, vključno z akutno trombocitopenijo. Bolniki z ledvično okvaro imajo večje tveganje za trombocitopenijo. Pri bolnikih, zdravljenih z zdravilom Gazyvaro, so bile v 1. ciklusu opisane tudi krvavitve s smrtnim izidom. Jasne povezavnosti med trombocitopenijo in krvavitvami niso ugotovili. Bolnike je treba natančno spremljati glede trombocitopenije, zlasti v prvem ciklusu; izvajati je treba redne laboratorijske preiskave krvne slike, dokler dogodek ne mine, pri hudi ali življenje ogrožajoči trombocitopeniji pa je treba razmisli o preložitvi odmerka na kasnejši čas. Transfuzija krvnih pripravkov je v skladu s smernicami za preprečevanje krvavitve. Bolniki, ki imajo hkrati CIRSe > 6 in očitek kreatinina < 70 ml/min, imajo večje tveganje za okužbe, vključno s hudimi okužbami. **Reaktivacija hepatitisa B:** Bolnikom, zdravljenim s protitelesi proti CD20 (vključno z zdravilom Gazyvaro), se lahko pojavi reaktivacija virusa hepatitisa B. V nekaterih primerih s posledičnim fulminantnim hepatitisom, jemlo odzvojnijo in smrtjo. Pred začetkom zdravljenja z zdravilom Gazyvaro je treba pri vseh bolnikih opraviti presajalno testiranje za virus hepatitisa B. To mora obsejati vsaj določitev stanja površinskega antigena hepatitisa B in stanja srednjega protitelesa proti hepatitisu B. To je mogoče dopolniti z drugimi ustreznimi označevalci v skladu z lokalnimi smernicami. Bolnikom z aktivnim hepatitisom B se ne sme zdraviti z zdravilom Gazyvaro. Bolniki s pozitivnimi serološkimi izvidi za hepatitis B se morajo pred začetkom zdravljenja posvetovati s specializmom za jetrne bolezni; treba jih je nadzorovati in voditi v skladu z lokalnimi zdravstvenimi standardi, da bi preprečili reaktivacijo hepatitisa. **Progressivna multifokalna levkoencefalopatija (PML):** Pri bolnikih, zdravljenih z zdravilom Gazyvaro, je bila opisana PML. Na diagnozo PML je treba pomisliti pri vsakem bolniku z novonastali nevrološkimi spremembami ali spremembi iz obstoječih nevroloških stanj. Simptomi PML so nespecifični in se lahko razlikujejo glede na prizadet možganski predel. Pogosti so motorični simptomi s prizadeto kortikalno-sinalnega trakta, senzorične nepravilnosti, cerebelarni simptomi in izpadi vidnega polja. Pojavijo se lahko nekatere znaki ali simptomi, ki veljajo za "kortikalne". Ovrnodtenje PML vključuje posvet z nevrologom, magnetresonančno slikanje možganov in lumbalno punkcijo. Med preiskovanjem suma na PML je treba zdravljenje z zdravilom Gazyvaro prekiniti, če je PML potrjena, če je PML potrjena, pa ga je treba trajno končati. V poštev pride tudi prenehanje ali zmanjšanje morebitne sočasne kemoterapije ali imunosupresivnega zdravljenja. Bolnika je treba napotiti k nevrologu za ovrednotenje in zdravljenje PML. **Imunizacija:** Varnost in učinkovitost z živimi ali oslabljenimi virusnimi cepivi po zdravljenju z zdravilom Gazyvaro ni raziskana in cepiljenje z živimi virusnimi cepivi med zdravljenjem in po odkrovanju celic B ni priporočljivo. **Zpovestitvenost obinutuzumabu in utero in cepiljenje novoročkov z živimi virusnimi cepivi:** Zaradi možnega zmanjšanja števila celic B pri novorojenčkih po izpostavitvi obinutuzumabu med nosečnostjo je treba pri njih kontrolirati njihovo število. Cepiljenje z živimi virusnimi cepivi je treba odložiti, dokler se število celic B pri dojenčku ne popravi. **Medsebojno delovanje z drugimi zdravili in druge oblike interakcij:** Studij medsebojnega delovanja niso izvedli. **Farmakokinetično medsebojno delovanje:** Obinutuzumab ni substrat, zaviralec ali induktor CYP450, encimov uridinofosfat-glukuroniltransferaze (UGT) ali prenašalcev, kakršni so P-glikoprotein. Zato ni pričakovati farmakokinetičnih medsebojnih delovanj z zdravili, ki se presnavljajo s temi encimskimi sistemi. **Farmakodinamično medsebojno delovanje:** Zaradi imunosupresivnega učinka obinutuzumaba cepiljenje z živimi virusnimi cepivi ni priporočljivo med zdravljenjem in po odkrovanju celic B. Obinutuzumab v kombinaciji s klorambucilom lahko poveča delež nevtropenije. **Neželeni učinki:** Najpogostejši neželeni učinek pri jemalcih zdravila Gazyvaro so bile reakcije, povezane z infuzijo, ki so se med prvimi ciklusi zdravljenja pojavile pri večini bolnikov. Incidenca z infundiranjem povezanih simptomov se je nato bistveno zmanjšala: s 65 % med infuzijo prvih 1000 mg zdravila Gazyvaro na manj kot 3 % med poznejšimi infuzijami. V ključni študiji se je nevtropenija pojavila pri 41 % bolnikov in trombocitopenija pri 15 % bolnikov. Med drugimi resnimi neželenimi učinki, zabeleženimi med kliničnim razvojem, so bili sindrom razpada tumorja, srčni dogodeki in, zelo redko, PML. Ostali neželeni učinki, zabeleženih z večjo incidenco (večja = ≥ 2 %) med prejemniki kombinacije zdravila Gazyvaro in klorambucila ter med prejemniki klorambucila samega ali kombinacije rituksimaba in klorambucila vseh stopenj, zelo pogosti: anemija, diarja in zvišana telesna temperatura. **Pogosti:** okužba sečil, nazofaringitis, herpes labialis, rinitis, faringitis, ploščatoocelični karcinom kože, levkopenija, hipertenzijska, hipertenzija, kašelj, zaprtost, alopecija, artralgija, bolečina v hrbtu, mišično-skeletna bolečina v prsnem košu, zmanjšanje števila belih krvnih celic, zmanjšanje števila nevtrofilcev in povečanje telesne mase. **Poročanje o domnevnih neželenih učinkih:** Poročanje o domnevnih neželenih učinkih zdravila na: Univerzitetni klinični center Ljubljana, Interna klinika, Center za zdravstvene, Zaloška cesta 2, SI-1000 Ljubljana, Faks: +386 (0) 1 434 76 46, e-pošta: farmakovigilanca@kclj.si. **Režim izdaje zdravila:** H Imetnik dovoljenja za promet: Roche Registration Limited, 6 Falcon Way, Shire Park, Welwyn Garden City, AL7 1TW, Velika Britanija. **Verzija:** 3/0/15 Informacija pripravljena: februar 2016.