

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 3





STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE | PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 3 | julij 2024 | letnik 75

ODGOVORNA UREDNICA:
Mojca Kerec Kos

GLAVNA UREDNICA:
Nina Kočevar Glavač

UREDNIŠKI ODBOR:
Žiga Jakopin
Marjetka Korpar
Mitja Kos
Anja Pišlar
Andrea Šetina
Matjaž Tuš
Dunja Urbančič
Tomaž Vovk
Alenka Zvonar Pobirk

IZDAJATELJSKI SVET:
Matejka Cvirn Novak
Mirjana Gašperlin
Sara Kenda
Smiljana Milošev Tuševljak
Janez Mravljak
Helena Pavšar
Aljaž Sočan

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

Brez pisnega dovoljenja uredništva Farmacevtskega vestnika so prepovedani reproduciranje, distribuiranje, javna priobčitev, predelava in kakršna koli druga uporaba avtorskega dela ali njegovih delov v kakršnem koli obsegu in postopku kot tudi tiskanje in predelava elektronske oblike.

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

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM
Fotografija na naslovnici: Shutterstock
Naklada: 3.600 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 sofinancira Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije iz sredstev državnega proračuna iz naslova razpisa za sofinanciranje domačih periodičnih znanstvenih publikacij.

Spoštovani,

v čast mi je, da vas lahko tokrat prvič nagovorim kot odgovorna urednica Farmacevtskega vestnika. Prof. dr. Borut Štrukelj, ki je nalogo odgovornega urednika opravljal vse od leta 1998, je bil namreč na lastno željo razrešen s te funkcije. Ob tej priliki bi se mu rada zahvalila za njegov izjemen prispevek, ne samo pri Farmacevtskem vestniku, temveč za vse aktivnosti v okviru Slovenskega farmacevtskega društva. V sodelovanju z glavno urednico in uredniškim odborom si bomo prizadevali ohraniti visoko kakovost Farmacevtskega vestnika tudi v prihodnje.

Poletna številka prinaša pester nabor člankov. Vključuje dva izvirna znanstvena članka. Prvi članek predstavlja rezultate specialistične naloge, v kateri so vrednotili vlogo lekarniškega farmacevta pri zdaji zdravlila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja v Javnem zavodu Gorenjske lekarne. V drugem izvirnem članku so raziskali dostopnost slovenskih kliničnih smernic in priporočil, proces njihovega oblikovanja in dokumente, ki pomagajo klinikom pri njihovem delu v primeru, če slovenske smernice niso na voljo.

Sledijo pregledni znanstveni članki. Ob omembi bisfenola A vsi pomislimo na njegov vpliv na endokrini sistem in prisotnost v plastiki. Bisfenoli so prisotni tudi v termičnem papirju (npr. računi, nalepke za označevanje hrane) in v članku je podan pregled pojavnosti bisfenolov v termičnem papirju ter toksikološki vidiki pri njihovi izpostavitvi. Naslednji članek predstavlja tridimenzionalni biotisk kot metodo za modeliranje raka jajčnikov. Gre za napredno tehniko, ki v primerjavi z dvodimenzionalnimi modeli omogoča boljšo ponazoritev naravne arhitekture tkiv in predstavlja dober model za raziskovanje biologije raka jajčnikov ter testiranje protirakovih učinkovin. Zadnji pregledni članek je posvečen elektroporaciji in njeni vlogi pri pripravi zdravil za napredno zdravljenje. Pri elektroporaciji celice izpostavimo kratkim visokonapetostnim električnim pulzom. To povzroči strukturne in biokemične spremembe celične membrane, kar omogoči vnos molekul v celico, zlivanje celic ali ekstrakcijo celične vsebine.

Zadnji, strokovni članek pa predstavlja sodobne analizne metode za vrednotenje peptida tetrakozaktida v galenskih izdelkih za izvedbo hitrega testa adrenokortikotropnega hormona. Intravenska aplikacija tetrakozaktida sproži sproščanje kortizola iz skorje nadledvične žleze, kar omogoča vrednotenje njene funkcije.

Želim vam lepe poletne dni, ki naj vas napolnijo z energijo in pozitivnim razpoloženjem za prihajajoče jesenske dni.

prof. dr. Mojca Kerec Kos, odgovorna urednica



VSEBINA / CONTENT

IZVIRNI ZNANSTVENI ČLANKI / ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

- 203 Katja Lukan, Brigita Mavsar Najdenov
Vloga lekarniškega farmacevta pri izdaji zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja
The role of the community pharmacist in dispensing the medicine with the nirmatrelvir/ritonavir combination
- 213 Ana Kodrič, Mitja Kos
Slovenske klinične smernice in priporočila
Slovenian clinical guidelines and recommendations

PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI / REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

- 220 Nina Franko, Marija Sollner Dolenc
Toksikološki vidiki izpostavitve bisfenolom v termičnem papirju
Toxicological aspects of exposure to bisphenols from thermal paper
- 230 Vesna Kokondoska Grgič, Maša Sinreih, Borut Štrukelj, Ivana Jovčevska
3D biotisk kot inovativna metoda za modeliranje raka jajčnikov
3D bioprinting as an innovative method for modeling ovarian cancer
- 241 Maša Kandušer, Irena Mlinarič-Raščan
Vloga elektroporacije pri pripravi zdravil za napredno zdravljenje
The role of electroporation for the preparation of advanced therapy medicinal products

STROKOVNI ČLANKI / PROFESSIONAL ARTICLES

- 250 Aleksandra Bračko, Janez Ilaš
Vrednotenje peptida tetrakozaktida v galenskih izdelkih za izvedbo hitrega testa ACTH
Evaluation of tetracosactide peptide in galenic formulations for rapid ACTH test

DRUŠTVENE VESTI

VLOGA LEKARNIŠKEGA FARMACEVTA PRI IZDAJI ZDRAVILA S KOMBINACIJO NIRMATRELVIRJA IN RITONAVIRJA

THE ROLE OF THE COMMUNITY PHARMACIST IN DISPENSING THE MEDICINE WITH THE NIRMATRELVIR/RITONAVIR COMBINATION

AVTORICI / AUTHORS:

Katja Lukan, mag. farm., spec.¹

Brigita Mavsar Najdenov, mag. farm., spec., pred.²

¹ Javni lekarniški zavod Gorenjske lekarne,
Gospodsvetska ulica 12, 4000 Kranj

² Splošna bolnišnica Jesenice, Cesta maršala Tita
112, 4270 Jesenice

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: katja.lukan@gorenjske-lekarne.si

POVZETEK

Izvedli smo retrospektivno raziskavo na podlagi podatkov iz lekarniške dokumentacije. Vključili smo vse bolnike z receptom za zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja, ki so v obdobju od 15. 9. 2022 do 25. 11. 2022 zdravilo prevzeli v Javnem zavodu Gorenjske lekarne. Pri 33 % (33/99) vključenih bolnikov je bila opravljena intervencija lekarniškega farmacevta, ki je zahtevala konzultacijo z zdravnikom. Po konzultaciji z zdravnikom je bilo pri 97 % (32/33) bolnikov zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja izdano, pri enem bolniku pa ne, zaradi ugotovljene kontraindikacije s sočasno terapijo. Pri 64 % (21/33) bolnikov je lekarniški farmacevt opravil intervencijo zaradi ugotovljenih interakcij, pri 30 % (10/33) bolnikov zaradi istočasno ugotovljenih interakcij in napak pri predpisnem odmerjanju zdravila ter pri 6 % (2/33) bolnikov zaradi ugotovljenega neustreznega predpisa odmerjanja. Izsledki raziskave dokazujejo pomembno in odgovorno vlogo lekarniških farmacevtov pri zagotavljanju varnosti in učinkovitosti zdravljenja z zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja.

KLJUČNE BESEDE:

intervencija lekarniškega farmacevta, kontraindikacije, potencialne interakcije, zdravilo s kombinacijo nirmatrelvir-ritonavir

ABSTRACT

We conducted a retrospective study of dispensing a drug combining nirmatrelvir/ritonavir to patients in Gorenjske lekarne Public Institute from 15/09/2022 to 25/11/2022. In 33 % (33/99) of the included patients an intervention of a community pharmacist was performed, which required consultation with a physician. Following the consultation with a physician, community pharmacist was able to dispense the nirmatrelvir/ritonavir combination to 97 % (32/33) of patients, whereas in one patient contraindication of nirmatrelvir/ritonavir combination with concomitant pharmacotherapy was detected, therefore the drug was not dispensed. Out of a total of 33 interventions, 64 % (21/33) were performed due to the identified drug-drug interactions with nirmatrelvir/ritonavir combination, 30 % (10/33) due to the identified drug-drug interactions with nir-



matrelvir/ritonavir combination and errors in the prescribed dosing of nirmatrelvir/ritonavir combination and 6 % (2/33) due to the identified errors in the prescribed dosing of nirmatrelvir/ritonavir combination. The research findings demonstrate an important role of a community pharmacist in ensuring the safety and effectiveness of treatment with nirmatrelvir/ritonavir combination.

KEY WORDS:

community pharmacist interventions, contraindications, nirmatrelvir/ritonavir combination, potential drug-drug interactions

1 UVOD

Virus SARS-CoV-2, ki povzroča bolezen covid-19, se je pojavil decembra 2019 v mestu Wuhan na Kitajskem. Zaradi te bolezni je Svetovna zdravstvena organizacija 11. marca 2020 razglasila pandemijo. Do 13. 12. 2023 so okužbo potrdili pri več kot 772 milijonih ljudi, od katerih jih je umrlo približno 7 milijonov, kar predstavlja približno 0,9-odstotno stopnjo smrtnosti. Z odkrivanjem novih zdravil za zdravljenje in preprečevanje bolezni covid-19 se smrtnost hitro zmanjšuje (1). Prvo cepivo proti bolezni covid-19 je Evropska agencija za zdravila odobrila decembra 2020, prvo peroralno zdravilo (zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja) pa 28. 1. 2022 (2). V Slovenijo je zdravilo prišlo na trg septembra 2022 (3).

1.1 ZDRAVILA ZA ZDRAVLJENJE BOLEZNI COVID-19

Razvoj nove zdravilne učinkovine je dolgotrajen proces, ki lahko traja tudi več kot deset let. V primeru bolezni covid-19 pa je velika podobnost virusa SARS-CoV-2 s predhodno poznanimi koronavirusoma SARS-CoV in MERS-CoV prispevala k hitremu razvoju potencialnih protivirusnih učinkovin (4). Zdravila za zdravljenje bolezni covid-19 delimo na protivirusna, ki so učinkovita v zgodnji, virusni fazi bolezni, ter protivnetna, ki jih uporabljamo v pozni, vnetni fazi. Ameriške smernice (*NIH COVID-19 Treatment Guidelines*) v zgodnji fazi bolezni kot prvo izbiro priporočajo peroralno zdravilo s kombinacijo učinkovin nirmatrelvirja in ritonavirja. Če navedeno zdravilo ni na voljo ali je kontraindicirano,

priporočajo intravensko zdravilo z remdesivirjem, sledi peroralno zdravilo z molnupiravirjem (5), ki pa v Evropi od junija 2023 ni več odobreno (6).

1.1.1 Zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja

Zdravilna učinkovina je nirmatrelvir, ki zavira virusno proteazo M^{Pro}, ki ima osrednjo vlogo pri razmnoževanju virusa, kar prepreči sintezo virusnih proteinov in posledično onemogoči razmnoževanje virusa. Ritonavir je učinkovina, ki so jo prvotno razvili za zdravljenje okužbe s humanim virusom imunske pomanjkljivosti (HIV). V zdravilu s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja ima ritonavir vlogo farmakokinetičnega ojačevalca učinkovitosti nirmatrelvirja, saj je močan zaviralec citokroma P450 3A4 (CYP3A4), preko katerega se presnavlja nirmatrelvir (7).

Ritonavir dodatno izkazuje učinke tudi na druge citokrome, in sicer je tudi šibek zaviralec CYP2D6 ter šibek induktor CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9 in CYP2C19. Zaviralni učinki na citokrome se izrazijo hitro, po končanem zdravljenju z ritonavirjem pa tudi hitro izzvenijo, in sicer v dveh do treh dneh oz. petih dneh pri bolnikih z oslabiljenim delovanjem ledvic. V nasprotju z zaviranjem pa je indukcija encima počasen proces, saj spodbudi sintezo novih encimskih molekul. Indukcija navedenih citokromov zaradi kratkotrajnega zdravljenja z ritonavirjem pri bolezni covid-19 nima velikega kliničnega pomena. Klinično pomembne so interakcije nirmatrelvirja z induktorji CYP3A4 (npr. karbamazepin, fenitoin, rifampicin), ki pomembno znižajo njegovo koncentracijo, saj je v tem primeru indukcija jetrnih encimov že prisotna. Ker indukcija traja še približno dva tedna po ukinitvi zdravila, je pri bolnikih, ki imajo v redni terapiji močne induktorje CYP3A4, zdravljenje z zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja kontraindicirano (8).

Ritonavir ima veliko afiniteto za P-glikoprotein in lahko inhibira delovanje tega prenašalca v celičnih membranah (3). P-glikoprotein se močno izraža v celicah črevesnega epitelija, jetrnih celicah, celicah proksimalnih ledvičnih tubulov in krvno-možganski pregradi. V črevesnem epiteliju prenaša nekatere toksine in učinkovine nazaj v lumen črevesja in tako zmanjšuje obseg njihove absorpcije oz. biološko uporabnost. V jetrnih celicah se s pomočjo P-glikoproteina izločajo ksenobiotiki in učinkovine v žolč, v ledvicah pa v primarni urin. P-glikoprotein je najpomembnejši prenašalec, ki preprečuje prehod ksenobiotikov preko krvno-možganske pregrade. Učinkovine, ki so induktorji P-glikoproteina (npr. rifampicin, učinkovine iz izvlečka šentjanževke, karbamazepin, fenitoin), povečajo prenos substratov iz črevesnega epitelija nazaj v lumen črevesja in tako zmanjšajo

biološko uporabnost zdravilnih učinkovin, ki so substrati za P-glikoprotein. Učinkovine, ki so zaviralci P-glikoproteina (npr. ritonavir, klaritromicin, eritromicin, verapamil), pa zaradi zmanjšanja prenosa substratov povečajo biološko uporabnost zdravilnih učinkovin, ki so substrati za P-glikoprotein. Veliko učinkovin, ki so substrati za P-glikoprotein, je tudi substratov za CYP3A4 (9).

Zaradi znanih vplivov ritonavirja na različne vrste citokromov P450 in P-glikoprotein zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja vstopa v številne interakcije z ostalimi učinkovinami, ki so substrati različnih vrst citokromov P450 in P-glikoproteina.

Pravilen predpis odmerjanja zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja je pri bolnikih z ohranjeno ledvično funkcijo (oGF \geq 60 mL/min) 300 mg nirmatrelvirja (dve 150-miligramski tableti) s 100 mg ritonavirja (ena 100-miligramska tableta) skupaj peroralno, na 12 ur, v obdobju petih dni. Pri bolnikih z zmerno okvaro delovanja ledvic (oGF \geq 30 do $<$ 60 mL/min) je potrebno odmerek zmanjšati na 150 mg nirmatrelvirja (ena 150-miligramska tableta) in 100 mg ritonavirja (ena 100-miligramska tableta) skupaj peroralno, na 12 ur, v obdobju petih dni. Pri bolnikih s hudo okvaro ledvic (oGF $<$ 30 mL/min, vključno z bolniki s končno ledvično odpovedjo na hemodializi) zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja ne smemo uporabljati (3).

Zaradi številnih interakcij zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja z ostalimi učinkovinami in zahtevnejšim režimom odmerjanja ima lekarniški farmacevt pri izdaji tega zdravila pomembno in odgovorno vlogo. Namen te raziskave je bil opredelitev ter vrednotenje vloge lekarniškega farmacevta pri izdaji zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja v Javnem zavodu Gorenjske lekarne.

2 METODE DELA

Izvedli smo retrospektivno raziskavo na podlagi podatkov iz lekarniške dokumentacije. Vključili smo 99 bolnikov z receptom za zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja, ki so v obdobju od 15. 9. 2022 do 25. 11. 2022 zdravilo prevzeli v Javnem zavodu Gorenjske lekarne (Lekarna Kranj in Lekarna Jesenice). Iz raziskave smo izključili 22 bolnikov, pri katerih je klinični farmacevt že predhodno, na pobudo zdravnika, preveril interakcije, ustreznost pravihga odmerjanja zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in

ritonavirja glede na ledvično funkcijo ter svetoval zdravniku glede morebitne prilagoditve ostale terapije. Pri izdaji zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja je moral lekarniški farmacevt upoštevati in izpolniti Protokol izdaje zdravila PAXLOVID® 150 mg + 100 mg, filmsko obložene tablete, ki ga je pripravila Lekarniška zbornica Slovenije (LZS) (10), na katerem je moral poleg preverbe interakcij zabeležiti tudi tip izvedene intervencije (preglednica 1) in navesti čas izdaje zdravila.

V raziskavi smo zbirali podatke o bolniku (spol, starost), predpisovalcu (osebni ali nadomestni zdravnik), ustanovi, kjer je bilo zdravilo predpisano na recept (zdravstveni dom, bolnišnica ali zasebna ambulanta), intervenciji lekarniškega farmacevta, času, potrebnem za izdajo, sočasni terapiji in ustreznosti predpisanega odmerjanja zdravila na receptu. Splošne podatke o bolniku in njegovi farmakoterapiji smo pridobili iz zgodovine izdanih zdravil preko kartice zdravstvenega zavarovanja in v nacionalnem informacijskem sistemu eRecept. Za ugotavljanje in ovrednotenje interakcij kombinacije nirmatrelvirja in ritonavirja z ostalimi predpisanimi učinkovinami pri posameznih bolnikih smo uporabljali podatkovno bazo *Liverpool COVID-19 drug interaction checker* (<https://covid19-druginteractions.org/checker>), na podlagi katere smo učinkovine razdelili v tri skupine: kontraindicirane učinkovine, učinkovine s potencialnimi interakcijami in učinkovine, pri katerih ob zdravljenju z zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja ni znane interakcije.

Vlogo lekarniškega farmacevta smo ovrednotili z ugotavljanjem števila in tipa intervencij, ki jih je lekarniški farmacevt opravil po protokolu LZS (preglednica 1).

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Med skupno 99 vključenimi bolniki je bilo 52,5 % (52/99) žensk in 47,5 % (47/99) moških. Povprečna starost preiskovane populacije bolnikov je bila 72 let.

3.1 PREDPIS ZDRAVILA S KOMBINACIJO NIRMATRELVIRJA IN RITONAVIRJA

Pri 28 % (27/98) receptov smo ugotovili neustrezno predpisano odmerjanje zdravila. Pri enem bolniku je zdravnik po posvetu z lekarniškim farmacevtom zaradi ugotovljene



Preglednica 1: Intervencije lekarniškega farmacevta po protokolu LZS (10).

Table 1: Interventions of a community pharmacist according to the protocol of the Pharmacy Chamber of Slovenia (10).

Intervencija	Tip intervencije	Opis intervencije	Uporaba v našem besedilu
Ne	1	Med zdravilom s kombinacijo nirmatrelvir-ritonavir in drugimi zdravili oz. pripravki v terapiji NISEM zasledil/a klinično pomembnih interakcij. Intervencija NI potrebna.	ni interakcije – intervencija ni potrebna
	2	Med zdravilom s kombinacijo nirmatrelvir-ritonavir in drugimi zdravili oz. pripravki v terapiji JE KLINIČNO POMEMBNA interakcija. Bolnik IMA ustrezna navodila s strani zdravnika glede uporabe sočasnih zdravil. Intervencija NI potrebna. Zdravilo JE izdano.	interakcija prisotna - intervencija ni potrebna
Da	3	Med zdravilom s kombinacijo nirmatrelvir-ritonavir in drugimi zdravili oz. pripravki v terapiji sem glede na interakcije zasledil/a klinično pomembne interakcije/kontraindikacije in/ali je bilo potrebno konzultirati predpisovalca zaradi nejasnosti predpisa oz. preverbe ustreznosti odmerka. Intervencija JE potrebna in JE ustrezno razrešena. Zdravilo JE izdano.	intervencija potrebna – razrešena – zdravilo izdano
	4	Med zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja in drugimi zdravili oz. pripravki v terapiji sem glede na interakcije zasledil/a klinično pomembne interakcije/kontraindikacije in /ali je bilo potrebno konzultirati predpisovalca zaradi nejasnosti predpisa oz. preverbe ustreznosti odmerka. Intervencija JE potrebna in je ustrezno razrešena. Zdravilo v dogovoru z predpisovalcem NI izdano.	intervencija potrebna – razrešena – zdravilo ni izdano
	5	Med zdravilom s kombinacijo nirmatrelvir-ritonavir in drugimi zdravili oz. pripravki v terapiji sem glede na interakcije zasledil/a klinično pomembne interakcije/kontraindikacije in/ali je bilo potrebno konzultirati predpisovalca zaradi nejasnosti predpisa oz. preverbe ustreznosti odmerka. Intervencija je potrebna in ni ustrezno razrešena. Zdravilo NI izdano (izdaja je zadržana).	intervencija potrebna – ni razrešena – zdravilo ni izdano

kontraindikacije z redno terapijo preklical eRecept za zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja. To je bil razlog, da v tem primeru v nacionalni bazi eRecept nismo pridobili

podatka o predpisanem odmerjanju. Različne vrste ugotovljenih neustreznih predpisov odmerjanj tega zdravila na receptih so prikazane v preglednici 2.

Preglednica 2: Vrste in število ugotovljenih neustreznih predpisov odmerjanj zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja na receptih.
Table 2: Dosing regimens and number of incorrect dosing of the nirmatrelvir/ritonavir combination on prescriptions.

Predpis odmerjanja na receptu	Število receptov
2x/dan 5 dni po navodilu	1
2x dnevno 1 tableto	9
1tbl/12 ur	1
Na 12 ur 1 odmerek	1
2x dnevno 5 dni	1
2 × 1	4
1x na dan 3 tablete	1
Po navodilu	3
Po shemi	5
2 × 2	1

3.2 INTERVENCIJE PRI IZDAJI ZDRAVILA S KOMBINACIJO NIRMATRELVIRJA IN RITONAVIRJA

Pri 67 % (66/99) bolnikov lekarniški farmacevt ni opravil intervencije, kar pomeni, da konzultacija z zdravnikom ni bila potrebna. Pri 29 od 66 bolnikov med zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja in drugimi zdravili oz. prehranskimi dopolnili nismo ugotovili klinično pomembnih interakcij. Pri preostalih 37 od 66 bolnikov smo ugotovili klinično pomembne interakcije, vendar je imel bolnik ustrezna ustna navodila zdravnika glede jemanja sočasne terapije, zato intervencija lekarniškega farmacevta ni bila potrebna.

Pri 33 % (33/99) bolnikov je bila intervencija lekarniškega farmacevta pred izdajo zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja potrebna. Pri 97 % (32/33) bolnikov je lekarniški farmacevt zaradi ugotovljenih klinično pomembnih interakcij med tem zdravilom in ostalimi zdravili morali izvesti intervencijo tipa 3 po protokolu LZS, kar pomeni, da je bila potrebna konzultacija s predpisovalcem. Po konzultaciji s predpisovalcem je bilo v vseh teh primerih zdravilo izdano ob prilagoditvi redne terapije. Pri preostalem enem bolniku (1/33) je bila opravljena intervencija tipa 4, pri kateri lekarniški farmacevt po konzultaciji z zdravnikom zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja ni izdal. Intervencij tipa 5 v naši raziskavi nismo ugotovili (slika 1).

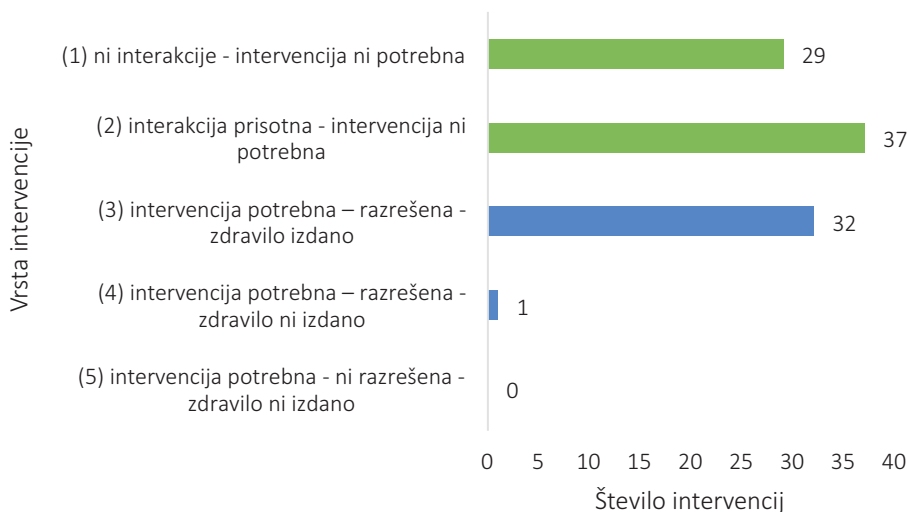
Med 27 recepti z ugotovljenim neustrezno predpisanim odmerjanjem zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja je lekarniški farmacevt intervencijo izvedel v 12 pri-

merih. Pri preostalih 15 primerih je imel bolnik ustrezna ustna navodila zdravnika glede pravilnega odmerjanja zdravila, zato konzultacija z zdravnikom, kljub neustrezno predpisanemu odmerjanju, ni bila opravljena. Predpis odmerjanja »2 × 2« (preglednica 2) pomeni, da bolnik vzame dvakrat dnevno po eno tableto nirmatrelvirja in eno tableto ritonavirja, bi bil ustrezen za bolnika z zmerno okvaro ledvične funkcije (oGF ≥ 30 do < 60 mL/min), vendar je v tem primeru bolnik imel ohranjeno ledvično funkcijo. Po pogovoru z bolnikom se je lekarniški farmacevt posvetoval z zdravnikom, ki je odmerek povečal na priporočeno odmerjanje dvakrat dnevno po dve tableti nirmatrelvirja in eno tableto ritonavirja.

Glede na dokaj veliko število (28 %) neustrezno predpisanih odmerjanj zdravila na receptih, se je izkazalo, da bi lekarniški farmacevt za preverbo pravilnega predpisa odmerjanja zdravila potreboval podatek o ledvični funkciji (oGF). V naši raziskavi je bila vrednost oGF navedena pri 11/98 bolnikov in pri vseh teh bolnikih je bilo predpisano tudi pravilno odmerjanje zdravila.

Glede na tip izvedene intervencije se je razlikoval tudi čas izdaje zdravila (slika 2). Povprečen čas izdaje zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja pri vseh vključenih bolnikih v raziskavo je bil 19 minut. Pri intervencijah tipov 1 in 2, pri katerih konzultacija z zdravnikom ni bila potrebna, je pa bilo potrebno preveriti interakcije, je lekarniški farmacevt za izdajo potreboval v povprečju 15 oz. 17 minut. Pri intervenciji tipa 3, pri kateri je bila potrebna konzultacija z zdravnikom, je bil povprečen čas za izdajo zdravila daljši, 25 minut. Intervencija tipa 4 je bila izvedena le v enem primeru, lekarniški farmacevt pa je za izdajo zdravila potreboval 30 minut.





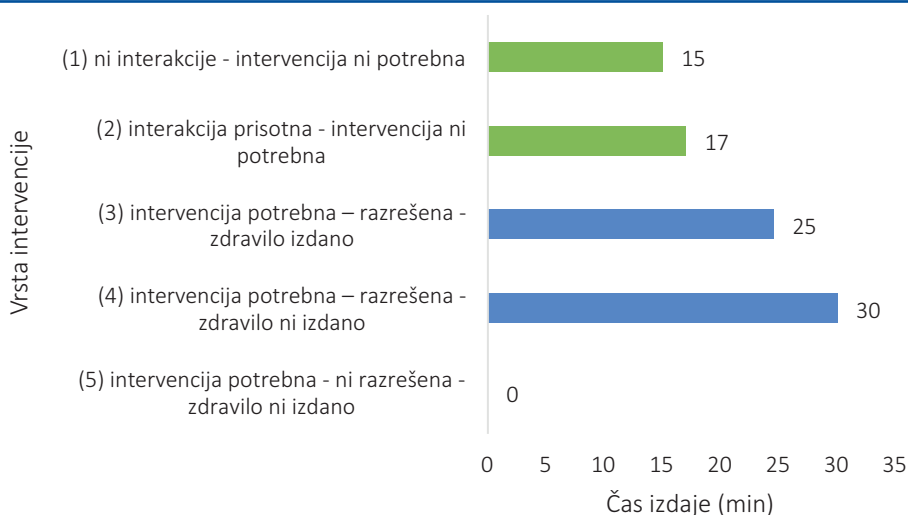
Slika 1: Število intervencij lekarniškega farmacevta glede na vrsto intervencije po protokolu LZS (N = 99).

Figure 1: The number of community pharmacist interventions according to the type of intervention (N=99).

3.3 VZROKI OPRAVLJENIH INTERVENCIJ LEKARNIŠKEGA FARMACEVTA

Lekarniški farmacevti so, skladno s protokolom LZS, pri 64 % (21/33) bolnikov izvedli intervencijo zaradi ugotovljene interakcije med bolnikovo redno terapijo in na novo predpisanim zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja.

Pri 30 % (10/30) bolnikov so opravili intervencijo zaradi hkrati prisotnih interakcij in neustreznega predpisa odmerjanja zdravila in v manjšem deležu, pri 6 % (2/33) bolnikov, zaradi ugotovljenih nepravilno predpisanih odmerjanj na receptu. Velikemu deležu intervencij bi se izognili, če bi zdravnik v eRecept zabeležil dodatne potrebne podatke o bolniku, posebej glede izvedenih sprememb v terapiji bolnika ob zdravljenju z zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja in ledvični funkciji.



Slika 2: Povprečen čas izdaje zdravila glede na tip izvedene intervencije (N = 99).

Figure 2: Average time required to dispense the medication depending on the type of intervention performed (N=99).

3.4 ANALIZA INTERAKCIJ ZDRAVILA S KOMBINACIJO NIRMATRELVIRJA IN RITONAVIRJA

Na podlagi uporabe podatkovne baze *Liverpool COVID-19 drug interaction checker*, je bilo od skupno 99 vključenih bolnikov zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja pri 2 % (2/99) bolnikov kontraindicirano, pri 12 % (12/99) bolnikov so bile hkrati ugotovljene kontraindikacije in potencialne interakcije, pri 62 % (61/99) bolnikov so bile ugotovljene potencialne interakcije, pri 24 % (24/99) bolnikov pa med terapijo bolnika in na novo uvedenim protivirusnim zdravilom ni bilo ugotovljenih interakcij (slika 3).

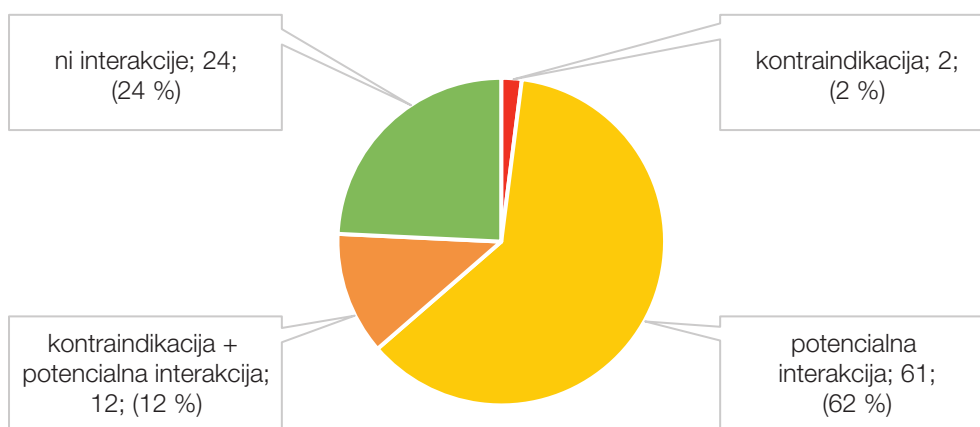
Pri 74 % (73/99) preiskovane populacije bolnikov je bilo ugotovljenih skupno 156 potencialnih interakcij med zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja in 26 različnimi učinkovinami, ki so jih imeli bolniki istočasno v redni terapiji (slika 4). Največji delež potencialnih interakcij je bilo z rosuvastatinom, in sicer 19 % (30/156), sledijo metamizol z 12 % (19/156), indapamid z 12 % (18/156) in amlodipin z 11 % (17/156).

Pri 14 % (14/99) preiskovane populacije bolnikov smo, na podlagi podatkovne baze *Liverpool COVID-19 drug interaction checker*, ugotovili kontraindikacije z učinkovinami v njihovi redni terapiji, in sicer: primidon, diazepam, lerkaniidipin, simvastatin, salmeterol, ranolazin, kvetiapin, klonazepam in eletriptan. Intervencija lekarniškega farmacevta je bila potrebna pri 11 od skupno 14 bolnikov z

ugotovljeno kontraindikacijo. Pri desetih bolnikih z izvedeno intervencijo je bilo zdravilo s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja izdano. Pri enem bolniku, ki je imel v redni terapiji primidon, ki je induktor CYP3A4, po posvetu z zdravnikom protivirusno zdravilo ni bilo izdano. Pri preostalih treh bolnikih, od skupno 14 z ugotovljeno kontraindikacijo, intervencija ni bila potrebna, saj je bolnik dobil točna navodila zdravnika glede zdravljenja s preostalo redno terapijo v času uporabe zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja.

Različne podatkovne baze so glede opredelitve kliničnega pomena interakcij v določenem obsegu neuskajane, zato je pred predpisom in izdajo zdravila s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja priporočljivo preverjanje interakcij v več različnih podatkovnih bazah. V naši raziskavi smo učinkovine, ki so bile v podatkovni bazi *Liverpool COVID-19 drug interaction checker* opredeljene kot kontraindicirane z zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja, dodatno pregledali še v dveh različnih podatkovnih bazah, in sicer v LexiComp (Wolters Kluwer) in Medscape (WebMD Health Professional Network), ter dodatno tudi v povzetku temeljnih značilnosti zdravila (SmPC) Paxlovid®.

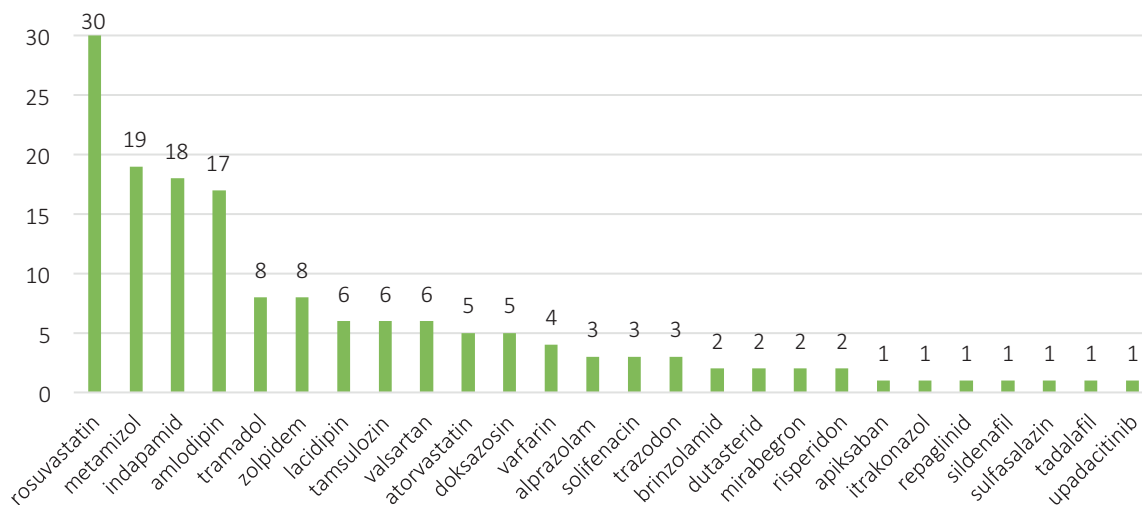
Učinkovine simvastatin, ranolazin in eletriptan so ob zdravljenju z zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja v vseh podatkovnih bazah opredeljene kot kontraindicirane, večje razlike pri opredelitvi kliničnega pomena interakcij pa so pri salmeterolu, kvetiapinu, diazepamu in klonazepamu. Pri preverbi interakcij je zato priporočljivo pregledati več



Slika 3: Število bolnikov z ugotovljenimi vrstami interakcij v terapiji glede na podatkovno bazo *Liverpool COVID-19 drug interaction checker* (N = 99).

Figure 3: Number of patients with identified interactions in therapy according to the *Liverpool COVID-19 drug interaction checker* database (N=99).





Slika 4: Število ugotovljenih potencialnih interakcij z ostalimi učinkovinami v redni terapiji preiskovane populacije bolnikov na podlagi podatkovne baze Liverpool COVID-19 drug interaction checker (N = 156).

Figure 4: The number of identified potential interactions with other active substances in regular therapy of all included patients according to the Liverpool COVID-19 drug interaction checker database (N=156).

podatkovnih baz in se glede zdravljenja odločiti individualno, glede na klinično stanje bolnika, pri čemer je pri interpretaciji interakcij potrebno upoštevati tudi odmerke sočasnih zdravil, ki jih bolnik prejema.

3.5 PREHRANSKA DOPOLNILA IN ZDRAVILA BREZ RECEPTA

V raziskavi smo iz Protokolov izdaje zdravila PAXLOVID® 150 mg + 100 mg, filmsko obložene tablete, zbirali tudi podatke o sočasnem jemanju prehranskih dopolnil in zdravil brez recepta ob protivirusnem zdravljenju. Zanesljivih raziskav, ki bi ovrednotile vplive prehranskih dopolnil na citokrome, ni. Veliko je sicer podatkov *in vitro*, ki nakazujejo vpliv prehranskih dopolnil na citokrome, dokazov *in vivo* pa je zelo malo (14). Bolniki, ki so bili vključeni v našo raziskavo, so uporabljali glukozamin, vitamine skupine B, koencim Q10, maščobne kisline omega-3, vitamin D3, diosmin, imunoglukan in kolagen. Trenutno razpoložljivi podatki nakazujejo, da je diosmin verjetno zaviralec CYP3A4 in P-glikoproteina v črevesju, zato je lekarniški farmacevt bolniku v času protivirusnega zdravljenja odsvetoval jemanje diosmina. Za glukozamin, vitamine skupine B, koencim Q10, maščobne kisline omega-3, vitamin D3, imunoglukan in kolagen trenutno ni podatkov o morebitnih interakcijah z zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja (15), zato lekarniški farmacevt v času protivirusnega zdravljenja

ni svetoval prenehanja jemanja zgoraj omenjenih prehranskih dopolnil in zdravil brez recepta.

4 SKLEP

Izsledki raziskave dokazujejo pomembno in odgovorno vlogo lekarniškega farmacevta pri zagotavljanju varnosti in učinkovitosti zdravljenja bolnikov z zdravilom s kombinacijo nirmatrelvirja in ritonavirja. Ob tem dodatno izpostavljamo tudi pomen in izpopolnitev komunikacijske povezave med zdravnikom in farmacevtom preko platforme eRecept glede navedbe dodatnih pomembnih podatkov s strani zdravnika, zlasti glede izvedenih sprememb v terapiji bolnika ob protivirusnem zdravljenju in o ledvični funkciji za preverbo pravega odmerjanja zdravila.

5 IZJAVA

Prispevek je povzetek specialistične naloge z naslovom Vloga lekarniškega farmacevta pri izdaji zdravila s kombinacijo nirmatrelvir/ritonavir v Javnem zavodu Gorenjske lekarne (2023).

Preglednica 3: Primerjava podatkovnih baz glede opredelitve interakcij med učinkovinami redne terapije in kombinacije nirmatrelvirja in ritonavirja, ki so v podatkovni bazi Liverpool COVID-19 drug interaction checker opredeljene kot kontraindicirane (3, 11, 12, 13).

Table 3: Comparison of different databases regarding the definition of interactions between the active substances of regular therapy and the nirmatrelvir/ritonavir combination, which are defined as contraindicated in the Liverpool COVID-19 drug interaction checker database (3, 11, 12, 13).

Učinkovine redne terapije	Liverpool	LexiComp	Medscape	SmPC zdravila Paxlovid®
Primidon	kontraindicirano	X	kontraindicirano	ni podatka
Simvastatin	kontraindicirano	X	kontraindicirano	kontraindicirano
Ranolazin	kontraindicirano	X	kontraindicirano	kontraindicirano
Eletriptan	kontraindicirano	X	kontraindicirano	kontraindicirano
Lerkanidipin	kontraindicirano	X	ni v bazi	ne jemljite
Salmeterol	kontraindicirano	X	možna sprememba terapije	ne jemljite
Kvetiapin	kontraindicirano	D	spremljanje terapije	kontraindicirano
Diazepam	kontraindicirano	C	ni interakcije	kontraindicirano
Klonazepam	kontraindicirano	C	ni interakcije	ni podatka

Legenda: X – izogibanje kombinaciji, D – možna sprememba terapije, C – spremljanje terapije

6 LITERATURA

- World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2019 [updated 2019 Dec 31; cited 2023 Dec 26]. Available from <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=c>
- European Medicines Agency. COVID-19 medicines [Internet]. Amsterdam: European Medicines Agency; 2023 [cited 2023 Dec 28]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/covid-19-medicines>
- Centralna baza zdravil. Paxlovid 150 mg + 100 mg filmsko obložene tablete [Internet]. Ljubljana: Centralna baza zdravil; [updated 2023 Dec 14, cited 2023 Dec 28]. Available from: [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=\(%5BTXIMELAS1%5D=_paxlovid*\)&SearchOrder=4&SearchMax=301](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/Search?SearchView&Query=(%5BTXIMELAS1%5D=_paxlovid*)&SearchOrder=4&SearchMax=301)
- Morse JS, Lalonde T, Xu S, Liu WR. Learning from the Past: Possible Urgent Prevention and Treatment Options for Severe Acute Respiratory Infections Caused by 2019-nCoV. *Chembiochem* [Internet]. 2020 Mar [cited 2023 Dec 26];21(5):730–738. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32022370/#:~:text=Herein%2C%20we%20suggest%20four%20potential,suffering%20with%20the%202019%2DnCoV>
- National Institutes of Health. COVID-19 Treatment Guidelines [Internet]. Maryland National Institutes of Health; [cited 2023 Dec 26]. Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
- European Medicines Agency. Lagevrio [Internet]. Amsterdam: European Medicines Agency; 2023 [cited 2023 Dec 28]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/lagevrio>
- Zdravniška zbornica Slovenije. »State of the Art« zdravljenje nehospitaliziranih bolnikov s covid-19 [Internet]. Ljubljana: Zdravniška zbornica Slovenije; 2022 [updated 2022 Sep 7, cited 2023 Dec 26]. Available from: <https://www.zdravniskazbornica.si/informacije-publikacije-in-analize/obvestila/2022/09/07/state-of-the-art-zdravljenje-neho-spitaliziranih-bolnikov-s-covid-19>
- Waters L, Marra F, Pozniak A, Cockburn J, Boffito M. Ritonavir and COVID-19: pragmatic guidance is important. *Lancet* [Internet]. 2022 Apr [cited 2023 Dec 26];399:1464-1465. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(22\)00280-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(22)00280-X/fulltext)
- Finch A, Pillans P. P-glycoprotein and its role in drug-drug interactions. *Aust Prescr* [Internet]. 2014 Aug [cited 2023 Dec 26];37:137-139. Available from: <https://www.nps.org.au/australian-prescriber/articles/p-glycoprotein-and-its-role-in-drug-drug-interactions>
- Protokol izdaje zdravila PAXLOVID® 150mg + 100mg filmsko obložene tablete, Lekarniška zbornica Slovenije.
- UpToDate. Drug Interactions [Internet]. Netherlands [cited 2023 Dec 26]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/search>
- University of Liverpool. COVID-19 Drug Interactions [Internet]. Liverpool: University of Liverpool; [cited 2023 Dec 26]. Available from: <https://www.covid19-druginteractions.org/checker>
- Medscape. Drug Interaction Checker [Internet]. New York [cited 2023 Dec 26]. Available from: <https://reference.medscape.com/drug-interactionchecker>



14. Hakkola J, Hukkanen J, Turpeinen M, Pelkonen O. Inhibition and induction of CYP enzymes in humans: an update. *Arch Toxicol* [Internet]. 2020 Nov [cited 2023 Dec 26];94(11):3671-3722. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7603454/pdf/204_2020_Article_2936.pdf
15. Natural medicines. Interaction Checker [Internet]. [cited 2023 Mar 7]. Available from: <https://naturalmedicines.therapeuticresearch.com/tools/interaction-checker.aspx#>

SLOVENSKE KLINIČNE SMERNICE IN PRIPOROČILA

SLOVENIAN CLINICAL GUIDELINES AND RECOMMENDATIONS

AVTORJA / AUTHORS:

asist. dr. Ana Kodrič, mag. farm.
prof. dr. Mitja Kos, mag. farm.

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

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: ana.kodric@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

V procesu načrtovanja zdravljenja bolnikov zdravstveni delavci uporabljajo različne dokumente, ki podajajo informacije, temelječe na z dokazi podprti medicini (1). Mednje prištevamo smernice, priporočila in klinične poti. Omenjene vrste dokumentov imajo različen status in načine oblikovanja ter sprejemanja. Smernice temeljijo na ugotovitvah znanstveno-raziskovalnega dela in so oblikovane na podlagi sistematičnega in dokumentiranega pregleda literature, hkrati pa predstavljajo stališča uradnih predstavnikov strokovnih medicinskih združenj ali zdravniških stanovskih organizacij. Slovenske smernice lahko temeljijo na uveljavljenih mednarodnih smernicah. Kljub temu mora biti proces

POVZETEK

Smernice imajo pomembno vlogo pri zagotavljanju kakovosti v zdravstvu. Zato smo proučili dostopnost slovenskih smernic, proces njihovega oblikovanja in dokumente, ki klinikom služijo kot podpora v odsotnosti slovenskih smernic. Po pregledu literature, spletnih virov ter intervjujev z osmimi strokovnjaki različnih področij smo identificirali 146 smernic oz. priporočil v slovenskem jeziku, največ na področjih onkologije, rehabilitacije in interne medicine. Oblikovanje slovenskih smernic oz. priporočil praviloma temelji na mednarodnih smernicah in prilagoditvi lokalni klinični praksi ter traja okvirno eno leto. Proces oblikovanja smernic se sooča s pomanjkanjem sistemskega pristopa k oblikovanju smernic, finančnih virov in motivacije ter časa strokovnjakov. Zaradi majhnosti slovenskega prostora se včasih postavlja vprašanje smiselnosti oblikovanja slovenskih smernic. Kliniki se v odsotnosti slovenskih smernic obračajo zlasti na evropske, vendar so slovenske smernice oz. priporočila koristna tako za zdravnike na primarnem nivoju kot tudi specialiste, saj upoštevajo posebnosti in omejitve slovenskega zdravstvenega sistema.

KLJUČNE BESEDE:

klinična praksa, priporočila, proces oblikovanja, slovenske smernice

ABSTRACT

Guidelines play a vital role in ensuring healthcare quality, prompting our investigation into the availability of Slovenian guidelines, their formation processes and the documents clinicians rely on when Slovenian guidelines are absent. We conducted a literature review, examined relevant Slovenian websites, and interviewed eight experts from different medical specialties. Our research identified 146 Slovenian guidelines or recommendations, primarily in oncology, rehabilitation and internal medicine. Typically, the creation of Slovenian guidelines or recommendations involves adapting international guidelines to local clinical practice, a process that takes about a year. This process faces significant challenges due to the lack of system support, financial resources and motivation among experts. Furthermore, the small size of the Slovenian healthcare landscape raises questions about the necessity



of creating Slovenian guidelines. In the absence of Slovenian guidelines, clinicians often refer to European guidelines. Nonetheless, Slovenian guidelines are invaluable for both specialists and primary care physicians, as they address the unique aspects and limitations of the Slovenian healthcare system.

KEY WORDS:

clinical practice, development process, recommendations, Slovenian guidelines

njihovega oblikovanja večdisciplinaren, obsegati pa mora tudi sistematičen pregled mednarodne in domače literature z dokumentiranim vrednotenjem dokazov. Vsebovati morajo dokaze najvišje stopnje in biti prilagojene za uporabo v slovenski klinični praksi (2).

Smernice se v praksi pogosto najbolje uveljavijo prek kliničnih poti, katerih glavni cilj je usklajevanje klinične prakse s priporočili smernic (3). Klinične poti predstavljajo standardizirane protokole večdisciplinarne zdravstvene oskrbe in opredeljujejo potrebne strokovnjake, vrstni red korakov ter ustrezno mesto, čas in sredstva za obravnavo bolnika. Ker podajajo celovit pregled procesov zdravljenja, imajo pomembno vlogo tudi v vrednotenju zdravstvenih tehnologij, saj zagotavljajo vpogled v dejanske prakse zdravljenja, porabo virov in s tem povezane stroške (4, 5). Smernice so pogosto vključene v več različnih kliničnih poti, saj v splošnem pokrivajo več kliničnih problemov, medtem ko se klinična pot osredotoča na specifični klinični problem (6). Klinična pot opredeljuje lokalno sprejet standard zdravstvene oskrbe na ravni posameznega zdravstvenega zavoda ali celo oddelka. Kljub temu, da v osnovi klinične poti temeljijo na smernicah, lahko prihaja do odstopanj zaradi pogostejšega posodabljanja kliničnih poti v primerjavi s smernicami, saj je nove dokaze enostavneje vključevati v lokalne dokumente kot pa smernice, sprejete na nacionalni ravni (7).

Tudi priporočila temeljijo na izsledkih znanstveno-raziskovalnega dela in predstavljajo soglasna stališča predstavnikov strokovnih medicinskih združenj. Praviloma temeljijo na že obstoječih domačih ali mednarodnih smernicah in so oblikovana ob upoštevanju uveljavljenih meril vrednotenja dokazov s konsenzom strokovnjakov, vendar pa ne vsebujejo sistematičnega pregleda domače strokovne literature. Zaradi različnih opredelitev in variabilnosti v načinu sprejemanja smernic in priporočil, je v letu 2018 na pobudo Slovenskega zdravniškega društva (SZD) nastal *Predlog poti sprejemanja strokovnih priporočil, kliničnih smernic in nacionalnih smernic*, ki ga je potrdil Zdravstveni svet na

Ministrstvu za zdravje. Omenjeni predlog predvideva oblikovanje strokovnih priporočil in smernic s strani delovnih skupin, organiziranih v okviru strokovnih združenj pod okriljem SZD. Predlagane smernice oz. priporočila se najprej predstavijo in sprejmejo na srečanju strokovnega združenja, kasneje pa predstavijo še na Strokovnem svetu SZD za zadevno strokovno področje ter Glavnem strokovnem svetu SZD. Po potrditvi na Glavnem strokovnem svetu smernice oz. priporočila objavijo v Zdravniškem vestniku ter posredujejo v vednost Zdravstvenemu svetu (2).

Smernice in priporočila imajo vlogo pri zagotavljanju dobre klinične prakse, racionalnem odločanju v zdravstveni obravnavi in izboljšanju kakovosti v zdravstvu (8), zato nas je zanimalo, koliko slovenskih smernic oz. priporočil je na voljo, kako poteka proces njihovega oblikovanja ter kateri dokumenti zdravstvenim delavcem predstavljajo podporo pri odločanju ob odsotnosti slovenskih smernic oz. priporočil.

2 METODE

2.1 PREGLED LITERATURE Z NAMENOM ISKANJA OBSTOJEČIH SLOVENSКИH SMERNIC IN PRIPOROČIL

Slovenske smernice smo iskali na spletu ob uporabi iskalnih profilov »klinične smernice«, »smernice zdravljenje«, »smernice za obravnavo« in »priporočila za zdravljenje«. Preverili smo tudi Seznam slovenskih medicinskih smernic v okviru Centralne medicinske knjižnice, Digitalni repozitorij raziskovalnih organizacij Slovenije, online platformo Mediatelly, na spletu dostopne sklepe potrjenih zapisnikov razširjenih strokovnih kolegijev pri Ministrstvu za zdravje ter Glavnega strokovnega sveta SZD, spletne strani terciarnih zdravstvenih ustanov (Univerzitetni klinični center Ljubljana, Univerzitetni klinični center Maribor, Univerzitetna klinika Golnik, Univerzitetna psihiatrična klinika Ljubljana in Onkološki inštitut Ljubljana) in spletne strani združenj, društev oz. sekcij v okviru SZD ter društev bolnikov. Pregled smernic je veljaven za datum 5. 1. 2024. Ocena vrste dokumentov (priporočila, smernice) je temeljila na opisu metodologije nastanka dokumenta in opredelitve, opisane v uvodnem poglavju. Dokumente smo klasificirali kot smernice, če so v procesu njegovega oblikovanja avtorji opravili pregled li-

terature in rangiranja dokazov. Če so vsebino povzeli po tujih smernicah in ob tem niso opravili sistematičnega pregleda domače literature in vrednotenja dokazov, smo dokumente klasificirali kot priporočilo.

2.2 INTERVJUJI

Vpogled v proces oblikovanja smernic v slovenskem prostoru in informacije o tem, kateri dokumenti klinikom predstavljajo podporo pri odločanju ob odsotnosti slovenskih smernic, smo pridobili v osmih delno strukturiranih intervjujih. Intervjuji so obsegali sledeče vsebinske sklope: 1) uvod, 2) informacije o strokovni organizaciji oz. organu, katerega predstavnik je intervjuvanec, 3) obstoj in vloga smernic oz. priporočil v splošnem, 4) proces oblikovanja in posodabljanja smernic oz. priporočil in 5) sodelovanje z drugimi deležniki v procesu oblikovanja in nadgradnje smernic oz. priporočil.

Intervjuji so potekali med decembrom 2022 in februarjem 2023. Med intervjuvanci so bili avtorji slovenskih kliničnih smernic, vodilni predstavniki zdravniških organizacij ter predsednik razširjenega strokovnega kolegija pri Ministrstvu za zdravje. Intervjuvanci delujejo na področjih endokrinologije, psihiatrije, onkologije, pulmologije, gastroenterologije, infektologije in revmatologije. Intervjuje smo posneli, iz zvočnega zapisa pripravili dobesedni prepis in ob pomoči programske opreme NVivo 11 Pro identificirali glavne teme in podteme.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

3.1 DOSTOPNOST SLOVENSКИH SMERNIC IN PRIPOROČIL: STANJE IN IZZIVI

V procesu iskanja smo identificirali 146 slovenskih smernic in priporočil (seznam je dostopen na <https://vts.ffa.uni-lj.si/smernice.xlsx>). V Sloveniji ni uradno definiranega registra, kjer bi bile zbrane vse najnovejše slovenske smernice. Največje število smernic oz. priporočil (81; 56 %), zbranih na enem mestu, je bilo moč najti na Seznamu slovenskih medicinskih smernic na spletni strani Centralne medicinske knjižnice (dostopno na <https://libguides.mf.uni-lj.si/smernice>). Smernice so sicer dostopne v strokovnih revijah (npr.

Zdravniški vestnik (65; 45 %), Onkologija (17; 12 %), Rehabilitacija (14; 10 %), na spletnih straneh strokovnih zdravniških organizacij (14; 10 %), bolnišnic (18; 12 %) in drugih javnih ustanov (npr. Nacionalni inštitut za javno zdravje (3; 2 %) ter na spletni platformi Mediatelly (1; 0,7 %).

Največ slovenskih smernic oz. priporočil je na voljo na področju onkologije (31; 21 %), sledita rehabilitacija (16; 11 %) in interna medicina (13; 9 %) (slika 1). V Sloveniji imamo v primerjavi z nekaterimi drugimi državami, kot sta Nizozemska in Danska, kjer imajo vzpostavljene formalne strukture, ki podpirajo njihovo oblikovanje, na voljo razmeroma majhno število smernic oz. priporočil. Intervjuvanci so kot pomemben razlog za majhno število slovenskih smernic oz. priporočil navedli dobro dostopnost mednarodnih smernic, ki so visokokakovostne in redno posodobljene, zaradi znanja angleščine pa pri njihovi uporabi nimajo jezikovnih ovir.

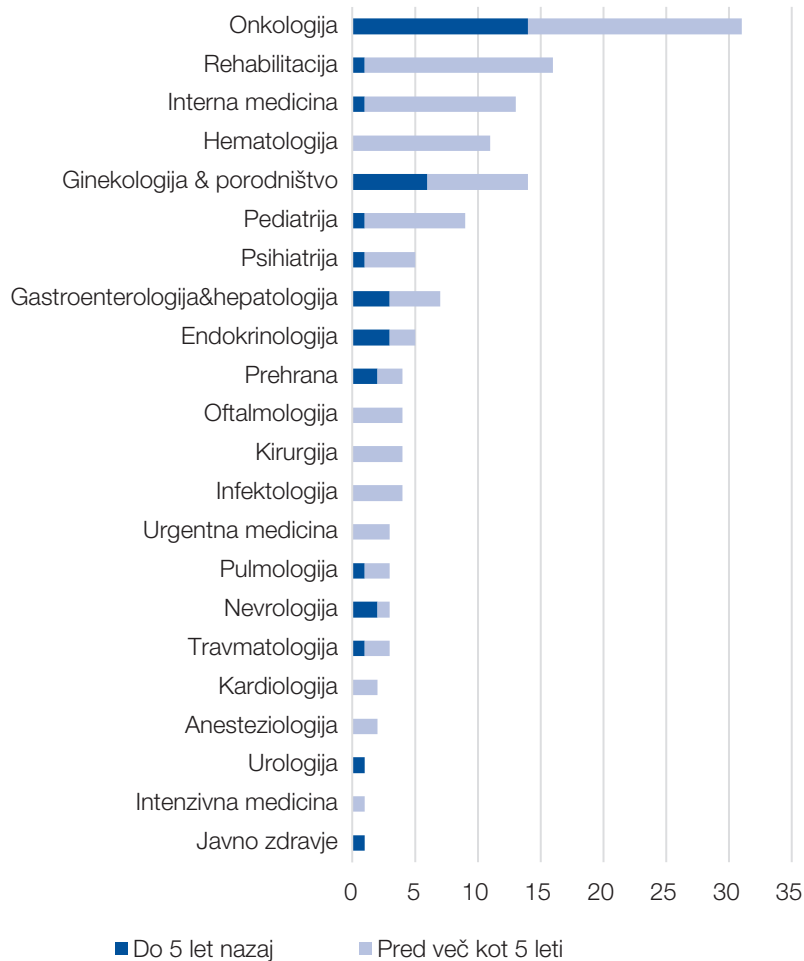
V odsotnosti nacionalnih smernic ali v primeru zastarelih nacionalnih smernic se slovenski zdravniki opirajo na evropske ali ameriške smernice, predvsem na prve zaradi boljše uporabnosti v našem zdravstvenem sistemu. Vendar pa je ena izmed intervjuvank izrazila skrb, da družinski zdravniki, pa tudi nekateri specialisti, ne sledijo posodobitvam mednarodnih smernic in bi zato slovenske smernice verjetno zdravnikom na primarnem nivoju zelo koristile. Po drugi strani so se nekateri intervjuvanci spraševali, ali sploh obstaja resnična potreba po slovenskih smernicah, saj na nekaterih področjih deluje majhno število zdravnikov, ki se morajo uskladiti, ali pa se zdravljenje izvaja celo le v eni terciarni bolnišnici, oz. so izrazili mnenje, da pomanjkanje nacionalnih smernic ne vodi v slabo klinično prakso.

Drugi razlogi, ki ključno prispevajo k manjši proaktivnosti pri snovanju smernic, so pomanjkanje sistema za podporo oblikovanju smernic, zaradi česar je bila v enem izmed intervjujev omenjena iniciativa po ustanovitvi agencije za pripravo smernic, ter pomanjkanje motivacije za tovrstne aktivnosti, kar je povezano s preobremenjenostjo zdravnikov in pomanjkanjem časa, ki bi bil namenjen razvoju smernic poleg rutinskega dela. Ker gre za delo na prostovoljni osnovi, brez finančne spodbude, primanjkuje strokovnjakov, ki bi bili pripravljeni sodelovati v procesu oblikovanja smernic, predvsem pa manjka visokomotiviranih posameznikov, ki bi bili gonilna sila tega procesa.

3.2 SMERNICE ALI PRIPOROČILA?

Pred letom 2018, ko je bil sprejet *Predlog poti sprejemanja strokovnih priporočil, kliničnih smernic in nacionalnih smernic*, je bilo objavljenih bistveno več dokumentov, poime-





Slika 1: Število slovenskih smernic oz. priporočil po posameznih področjih in glede na leto izdaje (N = 146).

Figure 1: The number of Slovenian guidelines and recommendations by specific areas and publication date (N=146).

novanih »smernice« (64; 65 %), medtem ko se je ta delež po letu 2018 zmanjšal na 32 %, na račun večjega števila izdanih »priporočil«. V 61 od 146 (42 %) pregledanih smernic oz. priporočil ni bila predstavljena metodologija oblikovanja dokumenta, v 8 (10 %) smernicah in 11 (17 %) priporočilih so bili pristopi predstavljeni na način, ki ni omogočal jasnega vpogleda v uporabljeno metodologijo. V 60 (40 %) dokumentih je bilo zagotovljenih dovolj informacij za oceno, ali gre za smernice ali priporočila. Podani opisi pristopov k oblikovanju omenjenih dokumentov so se izkazali kot izjemno heterogeni in so bili podani na različnih mestih dokumenta, kot so povzetek, uvod, metode in zaključek.

Pri 23 (28 %) smernicah ocenjujemo, da bi jih bilo ustrezneje nasloviti kot priporočila, medtem ko so bila le 3 (5 %) priporočila naslovljena neustrezno. Pri slednjih bi na podlagi

načina oblikovanja teh dokumentov lahko sklepali, da gre dejansko za stališča. Stališče je strokovno besedilo, zasnovano na ugotovitvah znanstveno-raziskovalnega dela, vendar pa gre za mnenja predstavnikov strokovnih medicinskih združenj ali zdravniških stanovskih organizacij in niso v celoti pripravljena po merilih, ki veljajo za sistematične preglede in vrednotenje dokazov (2).

Praviloma oblikovanje slovenskih smernic pomeni povzemanje in prilagoditev tujih smernic (običajno evropskih) ob upoštevanju posebnosti slovenskega zdravstvenega sistema, prilagoditve njihove uporabe v Sloveniji pa niso pripravljene po standardnih uveljavljenih merilih s sistematičnim pregledom domače strokovne literature in vrednotenjem dokazov (9). Večina slovenskih smernic zato pravzaprav niso smernice, ampak priporočila, kar je izrazila tudi ena izmed intervjuvank: »Včasih smo dali ime temu

smernice, zdaj pa smo to spremenili v priporočila, ker mišlim, da je to pravilnejši izraz.”

V petih primerih so smernice predstavljale direkten prevod mednarodnih smernic. Da bi bile slovenske smernice uporabne in imele možnost za uspešno uvedbo v lokalno klinično prakso, ni dovolj enostaven prevod tujih smernic, temveč je potrebna njihova kontekstualizacija. Ta vključuje proučitev in razmislek o lokalnih najboljših razpoložljivih dokazih ter merilih za sprejetje oz. prilagoditev priporočil iz obstoječih tujih smernic za slovensko okolje, odločanje o primernosti priporočil iz tujih smernic za naše okolje in spreminjanje ali dopolnjevanje priporočil na strukturiran in transparenten način (10).

Intervjuvanka je še dodala, da gre v primeru priporočil le za usmeritve zdravljenja, medtem ko so smernice bistveno bolj zavezujoče in bi zato zahtevale zelo pogoste posodobitve. Pravno gledano smernice sicer niso zavezujoče. Z drugimi besedami, zdravnikom ni treba upoštevati priporočil, če menijo, da niso primerna za določene bolnike. Smernice se le opredeljujejo do znanstvenih dokazov glede različnih predlogov pristopa k zdravljenju v opredeljenih okoliščinah in same po sebi teoretično nimajo odločilne vloge pri ugotavljanju, ali je zdravnik ravnal protipravno ali ne. Ker pa so v njih zbrani dokazi najvišje stopnje, si zdravniki težko privoščijo, da jih ne upoštevajo (6, 11).

3.3 PROCES OBLIKOVANJA IN POSODOBITVE SMERNIC OZ. PRIPOROČIL

3.3.1 Deležniki v procesu oblikovanja smernic oz. priporočil

Kljub sprejetju *Predloga poti sprejemanja strokovnih priporočil, kliničnih smernic in nacionalnih smernic* je le del smernic nastal po poti, predstavljeni v omenjenem predlogu. Priporočila in klinične smernice v Sloveniji naj bi oblikovala strokovna združenja. Vendar pa v mnogih primerih smernic niso oblikovale delovne skupine znotraj združenja v okviru SZD, temveč delovne skupine strokovnjakov različnih profilov, imenovanih s strani razširjenega strokovnega kolegija, članov konzilija, članov strokovnega združenja izven SZD ali pa *ad hoc* ekspertnih skupin, zbranih zgolj za namen oblikovanja zadevnih smernic. Najpogosteje proces razvoja smernic vodi eno zdravniško združenje in k sodelovanju povabi strokovnjake z drugih področij. Gre za kompleksen, večdisciplinaren pristop, zato je v razvoj smernic praviloma vključenih več posameznikov različnih medicinskih specialnosti ali drugih zdravstvenih delavcev (npr. me-

dicinske sestre in farmacevti) z različnih nivojev zdravstvenega varstva, saj je, kot so poudarili intervjuvanci, pomembno vključevanje vseh relevantnih deležnikov zaradi zagotavljanja celovitejših in kakovostnejših smernic ter njihove boljše sprejemljivosti v klinični praksi.

Intervjuvanci so povedali, da društva bolnikov do sedaj niso imela vloge v nobenem procesu razvoja smernic, v katerih so bili sami udeleženi, a nekateri razmišljajo o njihovem vključevanju v prihodnosti. Vključevanje bolnikov v oblikovanje smernic, bodisi skozi pogovore z njimi bodisi z upoštevanjem izkušenj bolnikov, poročanih v literaturi, je pomembno, saj lahko imajo le-ti drugačne prioritete ter poglede na zdravstveno obravnavo in izide zdravljenja kot zdravstveni delavci (7). V redkih primerih so bili bolniki v proces vključeni manj aktivno, npr. v primeru nacionalnih priporočil za obravnavo bolnikov s hemofilijo, ki jih je potrdil strokovni svet Društva hemofilikov, katerega člana sta tudi predstavnik bolnikov (12).

Smernice in priporočila naj bi potrdili strokovni sveti za posamezno stroko in nato še Glavni strokovni svet pri Slovenskem zdravniškem društvu, vendar po pregledu zapisnikov Glavnega strokovnega sveta od leta 2019 dalje ugotavljamo, da so na ta način potrdili manj kot petino smernic oz. priporočil. Vse nacionalne smernice v zaključni fazi formalno potrdi Zdravstveni svet (6).

V času objave tega članka je v obravnavi predlog Zakona o kakovosti v zdravstvu (13), ki predvideva ustanovitev neodvisne javne agencije za kakovost v zdravstvu. Ta naj bi med drugim predstavljala tudi formalno strukturo za zagotavljanje učinkovitih in transparentnih procesov oblikovanja nacionalnih smernic. Kljub temu se bo najverjetneje še vedno potrebno nasloniti na že osnovano strokovno bazo, kot je bila zasnovana v okviru Slovenskega zdravniškega društva.

3.3.2 Potek procesa oblikovanja slovenskih smernic oz. priporočil

Pobuda za izdelavo ali posodobitev smernic lahko pride od razširjenega strokovnega kolegija, Ministrstva za zdravje, Zdravniške zbornice Slovenije, strokovnega združenja, konzilija ali posameznih zdravstvenih delavcev iz prakse. Člani delovne skupine so izbrani na podlagi izkušenj in strokovnosti, vodilni avtorji smernic pa običajno prihajajo iz terciarnih institucij in so tudi univerzitetni profesorji. Nekateri so vključeni tudi v oblikovanje mednarodnih smernic. Intervjuvanci so opisali proces nastanka smernic, ki ga strnemo v sledeče korake:

1. oblikovanje delovne skupine strokovnjakov,
2. izbira ustrezne vsebine na podlagi osebne presoje,



3. razdelitev vsebine: vsak strokovnjak obravnava del smernic,
4. povzemanje dokazov in stopnje njihove verodostojnosti iz tujih smernic (drugi viri dokazov praviloma niso uporabljeni),
5. prilagajanje specifičnim pogojem in zmogljivosti slovenskega zdravstvenega sistema,
6. razprava in usklajevanje priporočil v okviru delovne skupine,
7. konsenz celotne delovne skupine glede vsebine smernic,
8. predstavitev strokovni javnosti – v nekaterih primerih,
9. dokončanje publikacije in
10. širjenje smernic znotraj in zunaj strokovnega združenja (npr. na Schrottovih ali Tavčarjevih dnevih) – v nekaterih primerih.

Prilagajanje tujih smernic slovenski klinični praksi obsega upoštevanje značilnosti in zmogljivosti zdravstvenega sistema, npr. kako pogosto se lahko izvaja spremljanje bolnika, ali pa odločitev, katera zdravila bodo uvrščena v smernice. Po besedah intervjuvancev v smernice uvrstijo le tista zdravila, ki imajo uradno pridobljeno dovoljenje za promet z zdravilom v Sloveniji. Dodaten kriterij je lahko status zdravila v smislu kritja s strani Zavoda za zdravstveno zavarovanje Slovenije (ZZZS), čeprav pri tem ni enotnega pristopa, saj nekatere smernice vključujejo le zdravila, ki so že krita s strani ZZZS (npr. rak glave in vratu), medtem ko druge vključujejo tudi zdravila, ki še niso dobila odobritve za povračilo stroškov (npr. rak dojke, sladkorna bolezen tipa 2).

V redkih primerih, kot so smernice za obravnavo sladkorne bolezni tipa 2, njihova vsebina ni le prilagoditev tujih smernic. Pri posodobitvah ohranjajo strukturo, ki je bila določena že pred leti in obsega celovit pristop k oskrbi bolnika, vključno z zdravljenjem sočasnih bolezni, paliativno oskrbo, psihološko oskrbo itd. V procesu posodobitve pregledajo najnovejše tuje smernice, a opravijo tudi pregled literature in vrednotenje dokazov.

Po obsežni razpravi o priporočilih in potrditvi vsebine s strani celotne delovne skupine, smernice sprejmejo. Ena izmed intervjuvank je izpostavila pragmatičnost pristopa prilagoditve tujih smernic, saj je oblikovanje smernic, ki vključuje pregled literature in vrednotenje dokazov z vidika razpoložljivih virov izredno zahteven proces, posebej za majhno slovensko okolje. Iz tega razloga je podvomila v smiselnost oblikovanja slovenskih smernic in ne zgolj priporočil, saj je priprava slednjih bistveno manj zahtevna.

V letu 2024 se intenzivno išče način uvedbe evropske Uredbe o vrednotenju zdravstvenih tehnologij (14), ki med

drugim predvideva skupno klinično oceno (*joint clinical assessment*) za zdravila in medicinske pripomočke na ravni Evropske unije. Ta vključuje razumevanje umeščenosti zdravstvene tehnologije v klinično prakso ter njeno primerjalno varnost in učinkovitost. Pri tem se poraja vprašanje, ali je smiselno iskati sinergijo vsaj v delu postopkov, ki so namenjeni tako oblikovanju smernic kot tudi najboljših možnih dokazov v okviru postopkov vrednotenja zdravstvenih tehnologij, z namenom racionalizacije delovanja.

3.3.3 Časovni okvir oblikovanja in nadgradnje smernic oz. priporočil

Proces razvoja smernic oz. priporočil praviloma traja približno eno leto. Širok vsebinski obseg smernic oz. priporočil zahteva znaten vložek časa in energije udeleženih v njihovo snovanje, kar predstavlja izziv posebej zato, ker jih člani delovne skupine pripravljajo v svojem prostem času. Doseganje soglasja glede vsebine smernic med vsemi sodelujočimi dodatno podaljša časovnico, posebej kadar so te večdisciplinarne in vključujejo večje število sodelujočih strokovnjakov.

Smernice oz. priporočila je zaradi tehnološkega napredka in novih spoznanj potrebno posodobljati. Postopek posodobljanja smernice traja manj časa kot razvoj novih, in sicer tri do šest mesecev. Vsi intervjuvanci so povedali, da so do sedaj posodobitve potekale spontano, torej ko so prepoznali potrebo po njih, in ne z vnaprej določenimi časovnimi obdobji. Poudarili so, da smernic oz. priporočil ne posodobijo, če ni bilo od zadnje verzije pomembnih novosti pri zdravljenju zadevne bolezni. Kot informacije, ki lahko sprožijo posodobitev, so intervjuvanci navedli:

- nove terapevtske pristope (npr. kdaj pričeti z zdravljenjem),
- novo odobreno zdravilo,
- nove odobrene indikacije za obstoječa zdravila,
- nove informacije glede varnosti zdravil ali varnostnih ukrepov,
- pomembne spremembe v vsebini mednarodnih smernic in
- spremembe podatkov o lokalni občutljivosti bakterij.

Kljub dosedanjim spontanim posodobitvam v prihodnosti nekateri intervjuvanci (področji sladkorne bolezni in raka dojke) načrtujejo fiksne posodobitve na dve leti zaradi pričakovanega prihoda velikega števila novih zdravil v naslednjih nekaj letih. Optimalni čas med posodobitvami je odvisen od področja in novosti v obdobju od zadnje posodobitve, a je lahko zadostno obdobje že pet let (7). Med slovenskimi smernicami oz. priporočili je bilo 71 % objavljenih pred več kot petimi leti (tj. pred letom 2019).

Intervjuvanci so pojasnili, da smernice oz. priporočila v določenih primerih kljub daljšem obdobju od zadnje verzije še ne potrebujejo posodobitve, saj so zaradi odsotnosti večjih sprememb, v smislu novih terapevtskih pristopov ali zdravil na tem področju, še vedno relativno aktualne. Pogosto pa je posodobitev potrebna, a praktično težko izvedljiva, saj je področje zelo obsežno in zato posodobitev zahtevna, ob tem pa je izziv najti strokovnjake, ki so pripravljene sodelovati v postopku posodabljanja smernic. Intervjuvanci so povedali tudi, da gre v slovenski klinični praksi pogosto za majhno skupino strokovnjakov na določenem področju, ki tesno sodelujejo in si izmenjujejo informacije, zato posodobitev smernic ni bistvena za zagotavljanje izvajanja najnovejših terapevtskih pristopov, ter da odsotnost omembe zdravlila v smernicah oz. priporočilih ne ovira njegove uvedbe v klinični praksi, saj se novosti zelo hitro prenašajo v prakso, potrebujejo pa več časa, da postanejo del smernic oz. priporočil.

4 SKLEP

Dostopnost smernic oz. priporočil v slovenskem jeziku je razmeroma omejena, ob tem pa jih v znatnem deležu tudi preredko posodablja, predvsem zaradi pomanjkanja razpoložljivih virov in motivacije ključnih strokovnjakov. Dodatno se zaradi majhnosti slovenskega prostora včasih pod vprašaj postavlja smiselnost oblikovanja slovenskih smernic. Te praviloma nastanejo na osnovi mednarodnih smernic, prilagojenih lokalni klinični praksi, a kljub temu zahtevajo precejšnji angažma strokovnjakov, ki tovrstne aktivnosti izvajajo v svojem prostem času. V odsotnosti slovenskih smernic oz. priporočil se kliniki obračajo zlasti na evropske smernice. Kljub pomislekom glede smiselnosti in izzivom, povezanim z razvojem in posodabljanjem, ostaja potreba po izboljšanju dostopnosti slovenskih smernic oz. priporočil zaradi njihove vloge pri zagotavljanju kakovostne oskrbe bolnikov.

5 LITERATURA

1. Panteli D, Legido-Quigley H, Reichebner C, et al. *Clinical Practice Guidelines as a quality strategy*. In: Busse R, Klazinga N, Panteli D, et al., editors. *Improving healthcare quality in*

- Europe: Characteristics, effectiveness and implementation of different strategies* [Internet]. Copenhagen (Denmark): European Observatory on Health Systems and Policies; 2019. (Health Policy Series, No. 53.) 9. [citirano 10.3.2024]. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549283/>.
2. Geršak K, Soštarič M, Komadina R, Strle F, Fras Z. *Pot sprejemanja strokovnih priporočil in kliničnih smernic Zdrav Vestn.* 2018;87(7-8):307-10.
3. Rotter T, de Jong RB, Lacko S. *Clinical pathways as a quality strategy*. In: Busse R, Klazinga N, Panteli D, et al., editors. *Improving healthcare quality in Europe: Characteristics, effectiveness and implementation of different strategies* [Internet]. Copenhagen (Denmark): European Observatory on Health Systems and Policies; 2019. (Health Policy Series, No. 53.) 12. [citirano 10.3.2024]. Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549262/>
4. *Institute for Clinical and Economic Review. A Guide to ICER's Methods for Health Technology Assessment 2020*. [citirano 13.6.2024]. Dostopno na: https://icer.org/wp-content/uploads/2021/01/ICER_HTA_Guide_102720.pdf.
5. *Institute for Clinical and Economic Review. Guide to Understanding Health Technology Assessment (HTA) 2018*. [citirano 13.6.2024]. Dostopno na: <https://icer.org/wp-content/uploads/2020/10/ICER-Guide-to-Understanding-Health-Technology-Assessment-6.19.18.pdf>.
6. Popovič B. *Pomen in pravni status priporočil in smernic*. *Zdrav Vestn.* 2018;87(7-8):365-77.
7. *Nacionalna delovna skupina za smernice. Priročnik za smernice*. Ljubljana: Ministrstvo za zdravje; 2003.
8. Joshi GP, Benzon HT, Gan TJ, Vetter TR. *Consistent Definitions of Clinical Practice Guidelines, Consensus Statements, Position Statements, and Practice Alerts*. *Anesth Analg.* 2019;129(6):1767-70.
9. Geršak K, Fras Z, Rems M. *Ali vemo, kakšne morajo biti dobre klinične smernice?* *Zdrav Vestn.* 2016(85):6-14.
10. *Strengthening countries' capacities to adopt and adapt evidence-based guidelines: a handbook for guideline contextualization*. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2023.
11. *What are clinical practice guidelines?* 2016. Cologne (Germany): Institute for Quality and Efficiency in Health Care. [citirano 10.3.2024] Dostopno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK390308/>.
12. Dolničar MB, Kotnik BF, Kitanovski L. *Nacionalna priporočila za obravnavo bolnikov s hemofilijo*. 2017(86):422-78.
13. *Predlog Zakona o kakovosti v zdravstvu*. Ministrstvo za zdravje, akt: 2024-2711-0039; e-demokracija. 26.4.2024. [citirano 13.6.2024]. Dostopno na: <https://e-uprava.gov.si/si/drzava-in-druzba/e-demokracija/predlogi-predpisov/predlog-predpisa.htm?id=16750>.
14. *Uredba (EU) 2021/2282 Evropskega parlamenta in sveta o vrednotenju zdravstvenih tehnologij in spremembi Direktive 2011/24/EU, (2021)*. [citirano 13.6.2024]. Dostopno na: [L_2021458SL.01000101.xml](https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2021/2282/oj) (europa.eu)



TOKSIKOLOŠKI VIDIKI IZPOSTAVITVE BISFENOLOM V TERMIČNEM PAPIRJU

TOXICOLOGICAL ASPECTS OF EXPOSURE TO BISPHENOLS FROM THERMAL PAPER

AVTORICI / AUTHORS:

asist. dr. Nina Franko, mag. ind. farm.
prof. dr. Marija Sollner Dolenc, mag. farm.

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

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

1 UVOD

Bisfenoli, predvsem bisfenol A (BPA), so tudi v laični javnosti poznani po prisotnosti v plastiki in vplivu na endokrini si-

POVZETEK

Uporabo bisfenola A v plastiki in termičnem papirju regulativni organi po vsem svetu vse bolj zaostrujejo, saj je potrjen motilec endokrinega sistema in vpliva na patogenezo številnih bolezni. Industrija ga posledično zamenjuje z nadomestki, ki pa zakonsko niso dovolj regulirani glede varnosti. Obstaja premalo toksikoloških raziskav, ki bi potrdile, da so varnejši od bisfenola A. Zaradi vsesplošne in pogoste uporabe bisfenola A in njegovih nadomestkov jih najdemo v okolju kot tudi v živih organizmih. Bisfenoli so prisotni tudi v termičnem papirju, ki ga uporabljamo v različne namene, od izdelave računov do nalepk za označevanje hrane in bioloških vzorcev v medicinskih laboratorijih. Po stiku z njim se prisotni bisfenoli absorbirajo v telo preko kože in vstopijo v sistemski obtok v aktivni, nemetabolizirani obliki. V preglednem članku smo zbrali podatke o pojavnosti bisfenolov v termičnem papirju, njihovi zmožnosti za transdermalni vstop v telo in možnem tveganju za zdravje.

KLJUČNE BESEDE:

bisfenol A, motilci endokrinega sistema, nadomestki, termični papir, toksični učinki

ABSTRACT

The use of bisphenol A in plastics and thermal paper is being increasingly tightened by regulatory authorities worldwide, as it is a confirmed endocrine disruptor and affects the pathogenesis of a number of diseases. As a result, the industry is replacing it with substitutes that are not sufficiently regulated for safety. There are too few toxicological studies to confirm that they are safer than bisphenol A. However, due to the widespread use of bisphenol A and its substitutes, they are found in the environment and in living organisms. Bisphenols are also present in thermal paper used for cash receipts and labels for food and biological samples in medical laboratories. After contact, they are absorbed into the body through the skin and enter the systemic circulation in non-metabolised form. In this review article, we have compiled information on the occurrence of bisphenols in thermal paper, their capacity for transdermal entry into the body and the potential health risks.

KEY WORDS:

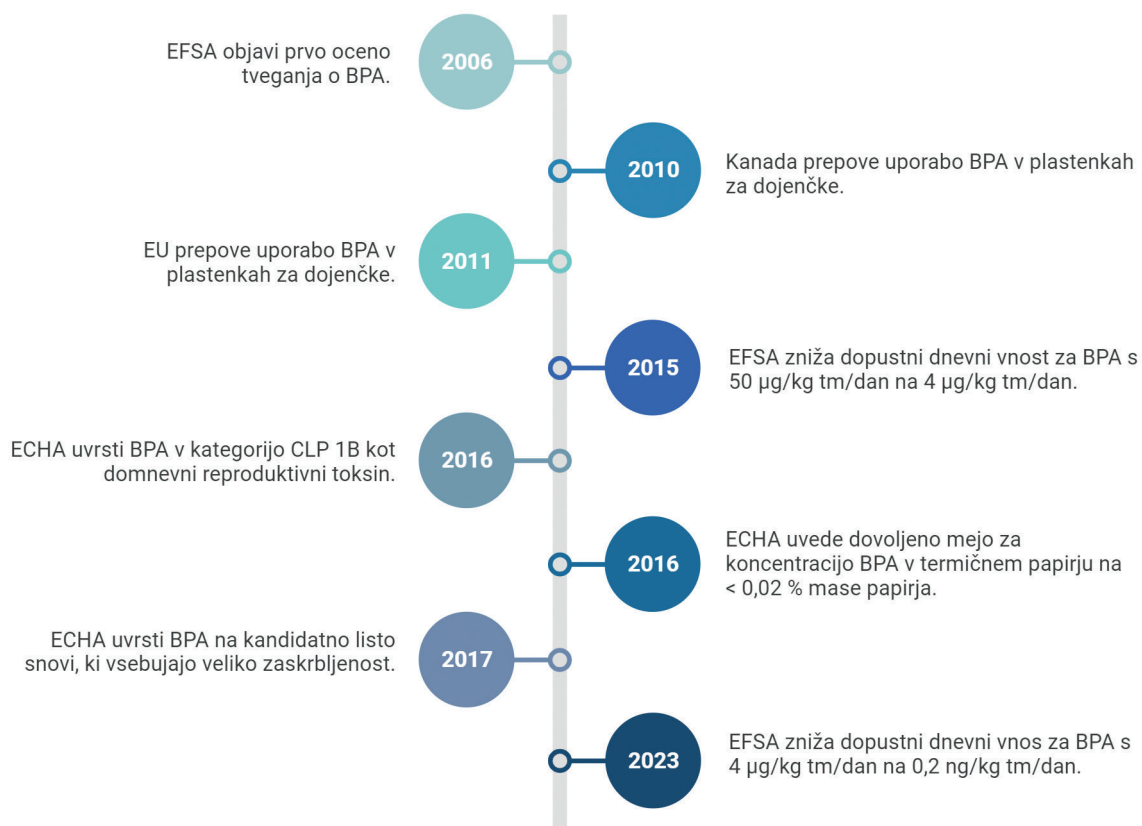
bisphenol A, endocrine disruptors, substitutes, thermal paper, toxic effects

stem. Številne raziskave so potrdile, da BPA vpliva ne le na hormonsko ravnovesje (1–3), temveč modulira tudi imunski odziv (4), vpliva na razvoj sladkorne bolezni (5), plodnost ter delovanje na srčno-žilni sistem (6), uvrščajo pa ga celo med epigenetske dejavnike (7).

BPA je osnovni gradnik polikarbonatne plastike, ki jo dobimo s polimerizacijo BPA. Polikarbonatno plastiko uporabljamo za izdelavo obojnine za hrano in vodo. Poleg tega se BPA nahaja v dentalnih zalivkah, epoksi smolah, s katerimi so prevlečene notranje strani konzerv in vodovodnih cevi, zunanjem ogrodju elektronskih instrumentov, igračah ter termičnem papirju. Uvrščajo ga celo med izlužke, saj lahko iz plastične obojnine migrira v zdravila (8), prisoten pa je tudi v medicinskih pripomočkih (npr. katetri, implantati), iz katerih se prav tako lahko izluži in parenteralno vstopi v sistemski obtok (9). Z BPA pa najpogosteje prihajamo v stik preko vodovodne vode, saj so vodovodne cevi prevlečene z BPA

vsebujočimi epoksi smolami, ter preko zaužite hrane in pijače, saj BPA vanju prehaja iz obojnine, pri čemer je obseg prehajanja odvisen od temperature in pH, ki jima je izdelek izpostavljen. Poleg tega pa ni zanemarljiv niti stik preko kože, predvsem preko rokovanja s termičnim papirjem. Ugotovili so tudi možnost izpostavitve preko vdihovanja, saj so ga določili tudi v prašnih delcih v zraku (8, 9). BPA je torej izredno pogosto v uporabi. Posledično smo mu ljudje vsakodnevno izpostavljeni in se sprošča v okolje.

Na podlagi kopičenja informacij, da BPA škoduje zdravju, so regulativni organi po svetu začeli omejevati dovoljeno količino BPA v obojnini, začeni s popolno prepovedjo njegove prisotnosti v plastenkah za hranjenje dojenčkov (10, 11). Leta 2023 je Evropska agencija za varnost hrane (EFSA, *European Food Safety Authority*) znižala dopustni dnevni vnos (TDI, *tolerable daily intake*) za kar 20.000-krat, in sicer s 4 µg na 0,2 ng na kilogram telesne mase (slika 1)



Legenda: ECHA – Evropska agencija za kemikalije, CLP – Uredba ES št. 1272/2008 o razvrščanju, označevanju in pakiranju.

Slika 1: Prikaz omejevanja uporabe BPA od leta 2006 do danes. Ustvarjeno z BioRender.com.

Figure 1: Timeline of BPA restrictions since 2006. Created with BioRender.com.



(12). Zaradi zaostrovanja uporabe BPA so proizvajalci materialov začeli BPA zamenjevati z nadomestki, ki pa še niso ustrezno zakonsko regulirani (13). Žal ti nadomestki vstopajo na trg brez predhodne popolne toksikološke ocene, s katero bi potrdili, ali so bolj varni kot BPA (14). Številni nadomestki so se izkazali za celo bolj škodljive kot BPA in Nemčija je v letu 2022 že podala predlog, da se zaradi škodljivega vpliva na zdravje omeji tudi uporabo bisfenolov B, S, F in AF, a je bil predlog pred kratkim umaknjen po zahtevi za predložitev novih podatkov (15).

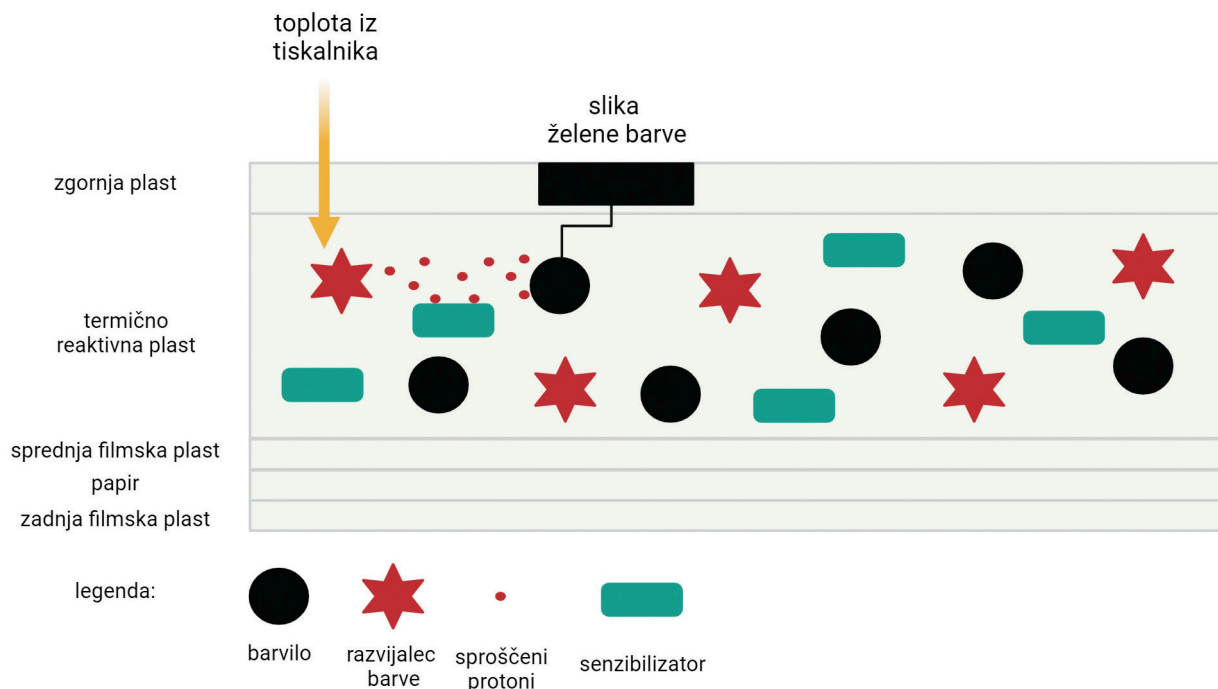
Vse več pozornosti pa vzbujajo bisfenoli kot sestavine v termičnem papirju (poleg BPA tudi BPS, BPS-MAE, TGSA itd.), kjer so prisotni kot razvijalci barve. Pod vplivom povišane temperature razvijalec barve (bisfenol) reagira z barvilom in tvori se slika zelene oblike (16, 17). Tak tip papirja uporabljamo za račune, izdane na blagajnah trgovin, lekarn, izpiskih iz POS-terminalov, nalepkah za označevanje natehtanega sadja, zelenjave in mesa, kino vstopnicah, letalskih kartah itd (18–20). V primerjavi s plastiko, kjer so bisfenoli prisotni v polimerni obliki, se v termičnem papirju nahajajo kot monomeri in posledično lažje prehajajo preko kože, ko pridemo v stik z njimi. S tega vidika izpostavitve bisfenolom so najbolj ogroženi poklicno izpostavljeni posamezniki, ki dnevno rokujejo s termičnim papirjem (21,

22), npr. prodajalci na blagajnah, natakarji, pa tudi farmacevti v lekarnah, laboratorijski delavci na odvzemu bioloških vzorcev itd. EFSA je leta 2020 ocenila, da izpostavljenost BPA preko termičnega papirja ni zanemarljiva in omejila njegovo prisotnost na 0,02 % mase papirja (23). Tako kot v plastiki so se posledično v termičnem papirju začeli pojavljati nadomestki BPA (13, 16, 20).

V preglednem članku povzemamo do sedaj znane ugotovitve o pojavnosti BPA in njegovih nadomestkov v termičnem papirju, sposobnostih njihove penetracije skozi kožo oz. v hrano ter o poročanih toksičnih učinkih po izpostavljenosti le-tem.

2 VLOGA BPA IN NJEGOVIH NADOMESTKOV V TERMIČNEM PAPIRJU

Da se na termičnem papirju pod vplivom temperature lahko razvije barvna slika, morajo biti v njem prisotni levko barvilo, razvijalec barve in senzibilizator. Levko barvilo je pri sobni temperaturi brez barve, pod vplivom povišane temperature in protona, ki ga donira razvijalec, pa se obarva. Naloga



Slika 2: Potek razvijanja slike v termičnem papirju; povzeto po (16).

Figure 2: The process of developing an image in thermal paper; adapted from (16).

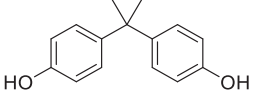
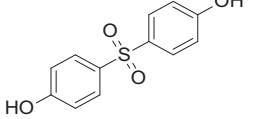
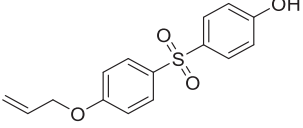
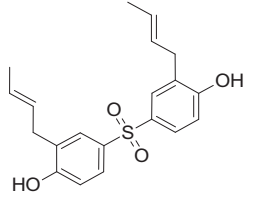
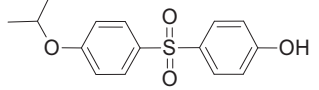
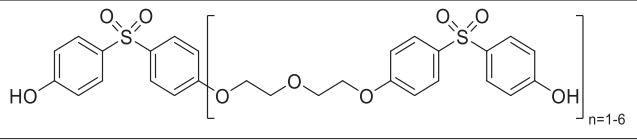
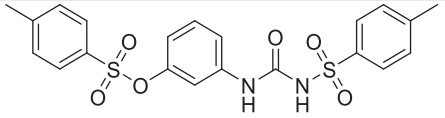
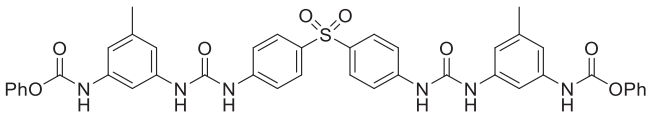
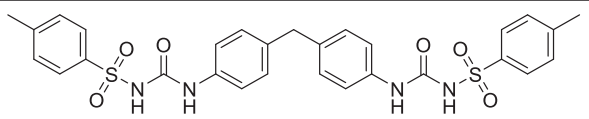
razvijalca barve je torej donacija protona, ki ga preko senzibilizatorja posreduje barvilo (slika 2) (16).

BPA uporabljamo kot razvijalec barve, saj je kot šibka kislina donor protonov. Kljub zaostreni zakonodaji je še vedno prisoten v termičnem papirju. Avstrijska raziskava iz leta 2022 je proučevala, ali termični papir na trgu ustreza

predpisanim zahtevam glede vsebnosti BPA, in prekoračeno dovoljeno vrednost so odkrili v enem vzorcu od devetih (24). Zanimivo je tudi, da se predvidoma med reciklažo papirja BPA prenese tudi v druge, netermične oblike papirja, kot so papirnata ovojnina za hrano, časopisi, revije in toaletni papir (25).

Preglednica 1: Bisfenol A in njegovi nadomestki v termičnem papirju.

Table 1: Bisphenol A and its substitutes in thermal paper.

Ime nadomestka BPA	Strukturna formula	Literaturni viri o prisotnosti v termičnem papirju
BPA		16, 19, 20, 27, 28
BPS		16, 19, 20, 26, 27, 29
BPS-MAE		16, 19, 28, 29
TGSA		16, 19, 29
D-8		16, 19, 20, 27, 29
D-90		16, 19, 28, 29
PF201		16, 19, 20, 27-29
UU		16, 20, 29
BTUM		16



Zaradi toksičnih učinkov in zakonskih omejitev kot razvijalce barve uporabljamo številne nadomestke BPA, katerih uporaba ni regulirana. Leta 2015 je ameriška Agencija za varstvo okolja (EPA, *Environmental Protection Agency*) izdala seznam spojin, ki bi po svoji funkciji v termičnem papirju lahko nadomestile BPA (16). Mednje spadajo strukturni analogi BPA ter spojine, ki BPA niso strukturno podobne in jih zato uvrščamo med nadomestke BPA (preglednica 1).

Raziskave nakazujejo, da v praksi BPA zamenjuje predvsem BPS. Poleg tega so v manjši meri prisotni tudi BPS-MAE, TGSA, D-8 (poimenovan tudi BPSIP) in D-90, ki so strukturni analogi BPS in se lahko pojavljajo tudi v kombinaciji z BPA oz. BPS. Od nadomestkov BPA je pogosto prisoten Pergafast 201 (PF201), medtem ko druge nadomestke (UU, BTUM) zasledimo redkeje (19, 20, 24–26).

3 IZPOSTAVLJENOST BPA IN NJEGOVIM NADOMESTKOM PREKO TERMIČNEGA PAPIRJA

Poleg izpostavljenosti BPA in njegovim nadomestkom preko hrane k celokupni izpostavljenosti doprinašata tudi vnos preko vdihovanja (npr. prahu) in transdermalni vnos. Raziskave so pokazale, da se BPA, BPS, D-8 in PF201 zlahka prenesejo na kožo prstov že po petsekundnem stiku s termičnim papirjem, prenos pa je še večji, če so prsti mastni ali vlažni oz. potni (20, 30). Pri transdermalnem vnosu BPA zaobide jetra in s tem metabolno pretvorbo I. in II. faze. V epidermisu se sicer deloma lahko metabolizira do BPA-glukuronida in BPA-sulfata, vendar si raziskave, koliko odstotkov absorbiranega BPA se dejansko metabolizira, niso enotne in gre verjetno le za manjši delež. Tako večina BPA ostane v nespremenjeni obliki, ki je farmakološko aktivna (31, 32). S tega vidika bi bila lahko transdermalna izpostavljenost bisfenolom še bolj problematična kot peroralna.

Enako kot BPA lahko koža absorbira tudi njegove nadomestke, pri čemer se bolje absorbirajo tisti z višjim porazdelitvenim koeficientom in nižjo molekulsko maso. Reale in sod. so ugotovili, da je učinkovitost absorpcije preko kože za BPA in njegove nadomestke sledeča: BPA > D-8 >> BPS > PF201 (33). Kljub temu, da je PF201 trenutno eden izmed najbolj zastopanih razvijalcev barve v termičnem papirju, je glede njegove absorpcije zaenkrat malo znanega. Raziskave nakazujejo, da se ne absorbira,

a ker je nestabilen v kislem pH in vodnem okolju, bi lahko v koži bil tudi v obliki metabolitov, ki jih dosedanje meritve še niso upoštevale (20, 33).

Leta 2015 je EFSA objavila obširno poročilo, v katerem navaja, da termični papir predstavlja drugi največji vir izpostavljenosti BPA pri osebah, starejših od treh let (takoj za izpostavljenostjo preko hrane) (34). Predpostavke temeljijo na oceni, da smo povprečno vsak dan v stiku s termičnim papirjem deset sekund, pri čemer se ga dotikamo s tremi prsti in se preko enega prsta absorbira 1,4 µg BPA. Povprečno naj bi bili torej otroci, starejši od treh let, dnevno izpostavljeni 68,8, najstniki 93,8, odrasli pa 58,9 ng BPA na kg telesne mase, po najslabšem scenariju pa bi najstniki lahko dosegli celo 863 in odrasli 542 ng BPA na kg telesne mase samo iz termičnega papirja (34).

Leta 2023 so Semerjian in sod. v vzorcih termičnega papirja določili BPA v koncentracijah med < 0,02 do 978,2 ng/mg. Določili so, da bi po najslabšem scenariju pri poklicno izpostavljenih osebah dnevni vnos BPA preko omenjenega termičnega papirja bil 52 ng na kg telesne mase za ženske in 43 ng na kg telesne mase za moške, kar že presega novi dopustni dnevni vnos 0,2 ng na kg telesne mase, tudi brez upoštevanja vnosa preko hrane in drugih virov (35). Po drugi strani pa so Bernier in sod. že leta 2017 poročali, da lahko v primeru, ko z računom čakamo na prevzem hrane, čas stika s termičnim papirjem v povprečju traja tudi 11,5 minute, pri čemer se ga večina dotika z dlanjo in ne le s tremi prsti. Ugotovili so, da bi bili lahko v najslabšem primeru, torej pri daljšem rokovanju s termičnim papirjem, ki vsebuje najvišje izmerjene koncentracije BPA (26,3 mg/g) in se ga dotikamo s celotno dlanjo, dnevno izpostavljeni tudi več desetim µg BPA (17).

Da je transdermalna izpostavljenost bisfenolom iz termičnega papirja opazna tudi *in vivo*, so potrdile raziskave humanega biomonitoringa, ki so spremljale pojavnost bisfenolov pri osebah, ki poklicno rokujejo s termičnim papirjem (npr. zaposleni v lekarnah, trgovinah in restavracijah). Ndaw in sod. so dokazali, da je koncentracija celokupnega (prostega in konjugiranega) BPA v urinu delavcev, ki so vsakodnevno izpostavljeni termičnemu papirju z 1–2 % BPA, dva- do trikrat višja v primerjavi s kontrolno skupino (2,89 µg/g kreatinina pri kontrolah in 6,76 µg/g kreatinina pri poklicno izpostavljenih), medtem ko pri nekonjugiranem BPA ni bilo razlik (0,21 in 0,22 µg/g kreatinina) (22). Thayer in sod. so proučevali koncentracije BPA v urinu in serumu pri poklicno izpostavljenih posameznikih pred opravljenim delom in po njem. Opazili so, da je koncentracija BPA v

urinu po delu bodisi narasla ali upadla, vendar je bila povprečna koncentracija po delu pri izpostavljenih posameznikih (2,76 µg/g kreatinina) značilno višja kot pri kontrolni skupini (1,25 µg/g kreatinina). V serumu so BPA zaznali le redko (21).

Raziskav, ki bi glede na vsebnost nadomestkov BPA v termičnem papirju predvidevale dnevno izpostavljenost posameznemu nadomestku, je zaenkrat zelo malo, prav tako ni določenega dopustnega dnevnega vnosa za nadomestke. Yang in sod. so v različnih oblikah termičnega papirja (računi, kino vstopnice, termične nalepke, letalske vozovnice itd.) zaznali prisotnost BPA, BPS, 2,4-BPS, D-90, D-8, BPS-MAE in TGSA in ocenili, da če se vsake izmed omenjenih vrst termičnega papirja dnevno dotikamo deset sekund, smo preko dermalne absorpcije povprečno izpostavljeni 1,7 µg bisfenolov (v najslabšem primeru tudi do 4,24 µg), kar za 70 kg težkega človeka pomeni 24,3 ng na kg telesne mase, to pa 120-krat presega novi dopustni dnevni vnos za BPA (36).

Podobno so Liao in sod. ocenili, da smo pri rokovanju z različnimi oblikami termičnega papirja dnevno izpostavljeni povprečno 293 ng BPS (v najslabšem primeru 21.806 ng/dan pri poklicno izpostavljenih), kar za 70 kg težkega človeka pomeni 4,2 ng BPS na kg telesne mase na dan (37), medtem ko Russo in sod. (38) ocenjujejo, da smo preko termičnih računov dnevno povprečno izpostavljeni 24,4 ng/dan (pri poklicno izpostavljenih 15.600 ng/dan), kar tudi pri 70 kg težki osebi pomeni 0,3 ng na kg telesne mase na dan, s čimer je že dosežen dopustni dnevni vnos za BPA. Razlike v izpostavitvah izhajajo iz razlik v koncentraciji bisfenolov v vzorcih termičnega papirja, predpostavkah o času rokovanja in predpostavljeni kinetiki absorpcije, pri kateri podatki temeljijo na znanih kinetičnih parametrih za BPA. Dopustni dnevni vnos za BPS sicer ni znan in tu podane vrednosti služijo orientacijsko za primerjavo z BPA.

Humani biomonitoring izpostavljenosti BPS in D-8 je pokazal, da imajo posamezniki, ki so poklicno izpostavljeni termičnemu papirju z BPS, značilno povečane koncentracije BPS v urinu po opravljenem delu v primerjavi s koncentracijo pred delom (z 0,23 na 0,54 µg/g kreatinina), vendar te vrednosti niso značilno drugačne od neizpostavljenih kontrol (0,41 µg/g kreatinina) (21). D-8 so v urinu bolj pogosto zaznali pri delavcih, ki so dnevno izpostavljeni papirju z D-8, kot v kontrolni skupini. V serumu delavcev so BPS zaznali le redko, medtem ko so D-8 pogosto zaznali tudi pri osebah, ki poklicno rokujejo s termičnim papirjem, ki sicer vsebuje druge razvijalce (21).

Pomemben vir izpostavljenosti bisfenolom so tudi termične nalepke za označevanje hrane. V pred kratkim objavljeni raziskavi iz Severne Amerike BPA v takšnih nalepkah niso zasledili, bili pa so prisotni njegovi nadomestki BPS, D-8, D-90, TGSA in PF201 (18). V sklopu te raziskave so prav tako dokazali, da lahko BPS, D-8, D-90 in PF201 iz nalepk preko plastične ovojnine prehajajo v pakirano hrano (v tem primeru je bila raziskava izvedena na pakiranih ribah). Prav tako so omenjene nadomestke zasledili v ostalih komponentah ovojnine za pakiranje hrane (18).

4 TOKSIČNI UČINKI IZPOSTAVLJENOSTI NAJPOGOSTEJŠIM BISFENOLOM V TERMIČNEM PAPIRJU

Koncentracije bisfenolov, izmerjene v serumu oz. urinu, so v nizkih nanomolarnih območjih (ng/mL) (39). Raziskave *in vitro*, ki proučujejo vplive bisfenolov, pa so običajno izvedene v mikromolarnem območju (40, 41), kar je približno 1000-krat več od koncentracij *in vivo* (39, 42, 43). Vendar glede na zgoraj navedene podatke, da že z rokovanjem s termičnim papirjem, brez upoštevanja vnosa s hrano, dosežemo dopustni dnevni vnos za BPA, ne moremo izključiti, da podatki *in vivo* ne predstavljajo toksikološko relevantnih koncentracij.

Vsesplošno prisotni bisfenol v termičnem papirju je BPA, katerega toksični učinki so tudi najbolj raziskani. BPA je agonist estrogenskega receptorja (1), antagonist androgenega receptorja (3), medtem ko na glukokortikoidni receptor deluje tako agonistično kot antagonistično (44). Poleg tega deluje kot agonist na mineralokortikoidni, pregnanski X in tiroidni receptor α (2, 45) ter kot antagonist na progesteronski in konstitutivni androstanski receptor ter jetrni receptor X (46–48). Višje koncentracije BPA v krvi oz. serumu so ugotovili pri bolnicah s policističnimi jajčniki, bolnicah s ponavljajočimi se spontanimi splavi ter ženskah z zgodovino prezgodnjega poroda. Prav tako so opazili povezavo z debelino endometrija, ki jo prisotnost BPA lahko pri mlajših ženskah zveča in pri starejših zmanjša. Tudi pri moških BPA vpliva na njihovo reproduktivno sposobnost (49). BPA se preko matere prenese na otroka preko placente in popkovine (50, 51) in s tem vpliva na razvoj ploda. Le nekaj raziskav je proučevalo vpliv BPA na razvoj ploda in te nakazujejo, da BPA prispeva k manjši porodni masi, vpliva na razvoj organov (52), nastop pubertete ter



preko neuroendokrine modulacije tudi na mentalno sposobnost in obnašanje, npr. na hiperaktivnost in motnje spanja (53). Izpostavljenost BPA je tudi dejavnik, ki prispeva k nastanku diabetesa tipa 2 (5), abdominalne debelosti (54), nealkoholne zamaščenosti jeter (55), koronarne srčne bolezni in ateroskleroze (56, 57) ter številnih rakavih bolezni (58, 59). Uvrščajo ga celo med epigenetske dejavnike (7, 49). Prav tako ni zanemarljiv vpliv BPA na imunski sistem (4).

Na podlagi raziskav na miših, kjer je izpostavljenost BPA porušila razmerje med celicami Th1 in Th2 ter prispevala k neustrezni aktivaciji in diferenciaciji regulatornih celic T (60), je EFSA leta 2023 drastično znižala dopustni dnevni vnos za BPA (12). EFSA je tudi zaključila, da BPA ne inducira mutacij v bakterijah, medtem ko povzroča prekinitve verige DNA ter ima klastogene in anevgene učinke v celicah sesalcev *in vitro*. Domnevajo, da so mehanizmi, povezani z oksidativnim stresom, odgovorni za poškodbe DNA in klastogeno aktivnost BPA *in vitro*. Razpoložljive raziskave *in vivo* dajejo omejene in nedosledne dokaze o poškodbah DNA in kromosomov (12, 61).

Podatki o genotoksičnosti BPS, ki je najpogostejši nadomestek BPA v termičnem papirju, so mnogokrat nasprotujoči, saj ga v nekaterih raziskavah *in vitro* opredeljujejo kot negenotoksičnega (61), medtem ko novejša raziskava kažejo vpliv na cepitev verige DNA (62). Tudi BPS je agonist estrogenskega receptorja (1) ter antagonist androgenega in glukokortikoidnega receptorja (3). Tako kot BPA je agonist s peroksisomskim proliferatorjem aktiviranega receptorja γ (PPAR γ) in posledično moti metabolizem lipidov. S tem je dejavnik za pojav debelosti (63), povezujejo pa ga tudi s povečanim tveganjem za nastanek srčno-žilnih bolezni (64). Glede na negativen vpliv na reproduktivno zdravje, ga ECHA uvršča v kategorijo 1B za reproduktivno toksičnost (14). Tako kot BPA lahko tudi BPS in njegov derivat D-8 prehajata preko matere v plod. V raziskavi na nosečnicah so BPA in D-90 zaznali v placentah vseh nosečnic, BPS pa pri 93 % (51). Prenatalna izpostavljenost BPS lahko vpliva na otrokov razvoj živčnega sistema (65).

Za ostale nadomestke BPA, ki se pojavljajo v termičnih papirjih, je izjemno malo podatkov. BPS-MAE deluje kot antagonist estrogenskega in androgenega receptorja (66), medtem ko se PF201 ne veže na estrogenski oziroma androgeni receptor (67). Raziskave *in silico* so pokazale, da BTUM in PF201 lahko interagirata s številnimi proteini, ki so vpleteni v patogenezo srčno-žilnih in ščitničnih bolezni, diabetesa ter rakov pljuč, dojk, materničnega vratu in prostate (68).

5 SKLEP

Prisotnost bisfenolov v termičnem papirju s toksikološkega vidika nikakor ni zanemarljiva. Na podlagi dosedanjih raziskav lahko zaključimo, da strukturni analogi oz. tudi drugi nadomestki BPA vsaj deloma prehajajo preko kože, nato pa le z delno metabolno pretvorbo vstopijo v sistemski obtok v farmakološko aktivni obliki. Nadomestki BPA vstopajo na trg brez celovite predhodne toksikološke obravnave, ki bi potrdila, ali so bolj varni kot BPA ali ne. Glede na delno strukturno podobnost z BPA in njegov širok spekter delovanja sklepamo, da imajo tudi nadomestki številne tarče v človeškem telesu in so najverjetneje prav tako vključeni v patogenezo različnih bolezni. Podatkov o toksičnih učinkih BPA je vedno več in skladno s tem je EFSA leta 2023 za 20.000-krat znižala dopustni dnevni vnos. Skrb zbujajoče dejstvo je, da smo lahko že preko rokovanja s termičnim papirjem dovolj izpostavljeni bisfenolom, da se preseže novi dopustni dnevni vnos za BPA, pri čemer vnos bisfenolov s hrano sploh ni upoštevan. Še posebej so ranljive skupine, ki poklicno rokujejo s termičnim papirjem, torej od prodajalcev na blagajnah do farmacevtov v lekarnah. Kljub temu, da zaenkrat ni podanih dopustnih dnevnih vnosov za nadomestke BPA in posledično za njih ne moremo zanesljivo oceniti tveganja za zdravje, je potrebno previdno in ozaveščeno rokovati s termičnim papirjem.

6 LITERATURA

1. Durcik M, Hiti L, Tomašič T, Peterlin Mašič L. New bisphenol A and bisphenol S analogs: Evaluation of their hER α agonistic and antagonistic activities using the OECD 455 *in vitro* assay and molecular modeling. *Chem Biol Interact.* 2022 Feb 25;354:109820.
2. Grimaldi M, Boulahtouf A, Toporova L, Balaguer P. Functional profiling of bisphenols for nuclear receptors. *Toxicology.* 2019 May 15;420:39–45.
3. Ma M, Zhao W, Tan T, Hitabatuma A, Wang P, Wang R, et al. Study of eighteen typical bisphenol analogues as agonist or antagonist for androgen and glucocorticoid at sub-micromolar concentrations *in vitro*. *Science of the Total Environment.* 2022 May 20;822.
4. Kodila A, Franko N, Sollner Dolenc M. A review on immunomodulatory effects of BPA analogues. *Archives of Toxicology* 2023 97:7 [Internet]. 2023 May 19 [cited 2023 Jul 12];97(7):1831–46. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-023-03519-y>

5. Jiang W, Ding K, Huang W, Xu F, Lei M, Yue R. Potential effects of bisphenol A on diabetes mellitus and its chronic complications: A narrative review. *Heliyon*. 2023 May 1;9(5):e16340.
6. Tvrđý V, Dias P, Nejmanová I, Carazo A, Jirkovský E, Pourová J, et al. The effects of bisphenols on the cardiovascular system *ex vivo* and *in vivo*. *Chemosphere* [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2023 Jul 12];313. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36528156/>
7. Cariati F, Carbone L, Conforti A, Bagnulo F, Peluso SR, Carotenuto C, et al. Bisphenol A-Induced Epigenetic Changes and Its Effects on the Male Reproductive System. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2020 Jul 30 [cited 2024 Mar 1];11:453. Available from: [/pmc/articles/PMC7406566/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36528156/)
8. Singh G, Lu D, Liu C, Hower D. Analytical challenges and recent advances in the identification and quantitation of extractables and leachables in pharmaceutical and medical products. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2021 Aug 1;141:116286.
9. Testai E, Hartemann P, Rodríguez-Farre E, Rastogi SC, Bustos J, Gundert-Remy U, et al. The safety of the use of bisphenol A in medical devices. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2016 Aug 1;79:106–7.
10. Bisphenol A in Batch 2 of the Challenge - Canada.ca [Internet]. [cited 2022 Nov 3]. Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/chemical-substances/challenge/batch-2/bisphenol-a.html>
11. Commission directive 2011/8/EU [Internet]. [cited 2022 Nov 4]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32011L0008>
12. Lambré C, Barat Baviera JM, Bolognesi C, Chesson A, Cocconcelli PS, Crebelli R, et al. Re-evaluation of the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal* [Internet]. 2023 Apr;21(4). Available from: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2023.6857>
13. BPA being replaced by BPS in thermal paper, ECHA survey finds [Internet]. [cited 2023 Nov 30]. Available from: <https://echa.europa.eu/sl/-/bpa-being-replaced-by-bps-in-thermal-paper-echa-survey-finds>
14. ECHA: Assessment of regulatory needs [Internet]. [cited 2022 Nov 4]. Available from: https://echa.europa.eu/documents/10162/3448017/GMT_109_Bisphenols_Report_public_23502_en.pdf/1bd5525c-432c-495d-9dab-d7806bf34312?t=1647590013566
15. Bisphenols with endocrine disrupting properties for the environment and their salts [Internet]. [cited 2023 Sep 26]. Available from: <https://echa.europa.eu/en/registry-of-restriction-intentions/-/dislist/details/0b0236e1853413ea>
16. EPA: Bisphenol A alternatives in thermal paper [Internet]. [cited 2022 Nov 4]. Available from: https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/bpa_final.pdf
17. Bernier MR, Vandenberg LN. Handling of thermal paper: Implications for dermal exposure to bisphenol A and its alternatives. *PLoS One* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2023 Aug 22];12(6):e0178449. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0178449>
18. Xu Z, Tian L, Liu L, Goodyer CG, Hales BF, Bayen S. Food Thermal Labels are a Source of Dietary Exposure to Bisphenol S and Other Color Developers. *Environ Sci Technol* [Internet]. 2023 Mar 28 [cited 2023 Aug 22];57(12):4984–91. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.est.2c09390>
19. Vervliet P, Gys C, Caballero-Casero N, Covaci A. Current-use of developers in thermal paper from 14 countries using liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Toxicology*. 2019 Mar 15;416:54–61.
20. Eckardt M, Simat TJ. Bisphenol A and alternatives in thermal paper receipts - a German market analysis from 2015 to 2017. *Chemosphere*. 2017 Nov 1;186:1016–25.
21. Thayer KA, Taylor KW, Garantzotis S, Schurman SH, Kissling GE, Hunt D, et al. Bisphenol A, Bisphenol S, and 4-Hydroxyphenyl 4-Isopropoxyphenylsulfone (BPSIP) in Urine and Blood of Cashiers. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2023 Sep 5];124(4):437–44. Available from: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.1409427>
22. Ndaw S, Remy A, Jargot D, Robert A. Occupational exposure of cashiers to Bisphenol A via thermal paper: urinary biomonitoring study. *Int Arch Occup Environ Health* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2023 Sep 5];89(6):935–46. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00420-016-1132-8>
23. Commission regulation (EU) 2016/2235 Annex XVII [Internet]. [cited 2022 Nov 4]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32016R2235>
24. Banaderakhshan R, Kemp P, Breul L, Steinbichl P, Hartmann C, Fürhacker M. Bisphenol A and its alternatives in Austrian thermal paper receipts, and the migration from reusable plastic drinking bottles into water and artificial saliva using UHPLC-MS/MS. *Chemosphere*. 2022 Jan 1;286.
25. Yang Y, Yang Y, Zhang J, Shao B, Yin J. Assessment of bisphenol A alternatives in paper products from the Chinese market and their dermal exposure in the general population. *Environmental Pollution*. 2019 Jan 1;244:238–46.
26. ECHA. Bisphenol S has replaced bisphenol A in thermal paper [Internet]. [cited 2023 Aug 31]. Available from: <https://echa.europa.eu/sl/-/bisphenol-s-has-replaced-bisphenol-a-in-thermal-paper>
27. Goldinger DM, Demierre AL, Zoller O, Rupp H, Reinhard H, Magnin R, et al. Endocrine activity of alternatives to BPA found in thermal paper in Switzerland. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2015 Apr 1;71(3):453–62.
28. Björnsdotter MK, Jonker W, Legradi J, Kool J, Ballesteros-Gómez A. Bisphenol A alternatives in thermal paper from the Netherlands, Spain, Sweden and Norway. Screening and potential toxicity. *Science of The Total Environment*. 2017 Dec 1;601–602:210–21.
29. Eckardt M, Kubicova M, Tong D, Simat TJ. Determination of color developers replacing bisphenol A in thermal paper receipts using diode array and Corona charged aerosol detection—A German market analysis 2018/2019. *J Chromatogr A*. 2020 Jan 4;1609:460437.
30. Biedermann S, Tschudin P, Grob K. Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin. *Anal Bioanal Chem* [Internet]. 2010 Sep 11 [cited 2023 Aug 22];398(11):571–6. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-010-3936-9>
31. Zalko D, Jacques C, Duplan H, Bruel S, Perdu E. Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A. *Chemosphere*. 2011 Jan 1;82(3):424–30.
32. Toner F, Allan G, Dimond SS, Waechter JM, Beyer D. *In vitro* percutaneous absorption and metabolism of Bisphenol A (BPA) through fresh human skin. *Toxicology in Vitro*. 2018 Mar 1;47:147–55.
33. Reale E, Vernez D, Hopf NB. Skin Absorption of Bisphenol A and Its Alternatives in Thermal Paper. *Ann Work Expo Health*

- [Internet]. 2021 Mar 3 [cited 2023 Aug 22];65(2):206–18. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/annweh/wxaa095>
34. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal*. 2015 Jan 1;13(1).
 35. Semerjian L, Alawadhi N, Nazer K. Detection of bisphenol A in thermal paper receipts and assessment of human exposure: A case study from Sharjah, United Arab Emirates. *PLoS One* [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2023 Oct 14];18(3). Available from: [/pmc/articles/PMC10047534/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36747534/)
 36. Yang Y, Yang Y, Zhang J, Shao B, Yin J. Assessment of bisphenol A alternatives in paper products from the Chinese market and their dermal exposure in the general population. *Environmental Pollution*. 2019 Jan 1;244:238–46.
 37. Liao C, Liu F, Kannan K. Bisphenol S, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bills and its association with bisphenol a residues. *Environ Sci Technol* [Internet]. 2012 Jun 19 [cited 2023 Oct 18];46(12):6515–22. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es300876n>
 38. Russo G, Barbato F, Grumetto L. Monitoring of bisphenol A and bisphenol S in thermal paper receipts from the Italian market and estimated transdermal human intake: A pilot study. *Science of the Total Environment* [Internet]. 2017 [cited 2023 Oct 18];599:68–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.1920048-9697/>
 39. Gao C, He H, Qiu W, Zheng Y, Chen Y, Hu S, et al. Oxidative Stress, Endocrine Disturbance, and Immune Interference in Humans Showed Relationships to Serum Bisphenol Concentrations in a Dense Industrial Area. *Environ Sci Technol*. 2021 Feb 2;55(3):1953–63.
 40. Švajger U, Sollner Dolenc M, Jeras M. In vitro impact of bisphenols BPA, BPF, BPAF and 17 β -estradiol (E2) on human monocyte-derived dendritic cell generation, maturation and function. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2022 May 9];34:146–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2016.02.030>
 41. Buoso E, Kenda M, Masi M, Linciano P, Galbiati V, Racchi M, et al. Effects of Bisphenols on RACK1 Expression and Their Immunological Implications in THP-1 Cells. *Front Pharmacol*. 2021 May;12.
 42. Owczarek K, Kubica P, Kudlak B, Rutkowska A, Konieczna A, Rachoń D, et al. Determination of trace levels of eleven bisphenol A analogues in human blood serum by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Science of The Total Environment*. 2018 Jul 1;628–629:1362–8.
 43. Li A, Zhuang T, Shi W, Liang Y, Liao C, Song M, et al. Serum concentration of bisphenol analogues in pregnant women in China. *Science of the Total Environment*. 2020;707.
 44. Chen Q, Zhou C, Shi W, Wang X, Xia P, Song M, et al. Mechanistic in silico modeling of bisphenols to predict estrogen and glucocorticoid disrupting potentials. *Science of The Total Environment*. 2020 Aug 1;728:138854.
 45. Lei B, Xu J, Peng W, Wen Y, Zeng X, Yu Z, et al. In vitro profiling of toxicity and endocrine disrupting effects of bisphenol analogues by employing MCF-7 cells and two-hybrid yeast bioassay. *Environ Toxicol* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2022 Nov 16];32(1):278–89. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/tox.22234>
 46. Šauer P, Švecová H, Grabicová K, Gönül Aydın F, Mackulak T, Kodeš V, et al. Bisphenols emerging in Norwegian and Czech aquatic environments show transthyretin binding potency and other less-studied endocrine-disrupting activities. *Science of The Total Environment*. 2021 Jan 10;751:141801.
 47. Kojima H, Takeuchi S, Sanoh S, Okuda K, Kitamura S, Uramaru N, et al. Profiling of bisphenol A and eight its analogues on transcriptional activity via human nuclear receptors. *Toxicology*. 2019;413:48–55.
 48. Liu X, Sakai H, Nishigori M, Suyama K, Nawaji T, Ikeda S, et al. Receptor-binding affinities of bisphenol A and its next-generation analogs for human nuclear receptors. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2019;377.
 49. Ma Y, Liu H, Wu J, Yuan L, Wang Y, Du X, et al. The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environ Res*. 2019 Sep 1;176:108575.
 50. Balakrishnan B, Henare K, Thorstensen EB, Ponnampalam AP, Mitchell MD. Transfer of bisphenol A across the human placenta. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202(4):393.e1-393.e7.
 51. Pan Y, Deng M, Li J, Du B, Lan S, Liang X, et al. Occurrence and Maternal Transfer of Multiple Bisphenols, including an Emerging Derivative with Unexpectedly High Concentrations, in the Human Maternal-Fetal-Placental Unit. *Environ Sci Technol*. 2020;54(6):3476–86.
 52. Pinney SE, Mesaros CA, Snyder NW, Busch CM, Xiao R, Aijaz S, et al. Second trimester amniotic fluid bisphenol A concentration is associated with decreased birth weight in term infants. *Reproductive Toxicology*. 2017 Jan 1;67:1–9.
 53. Perera F, Vishnevetsky J, Herbstman JB, Calafat AM, Xiong W, Rauh V, et al. Prenatal bisphenol a exposure and child behavior in an innercity cohort. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2012 Aug [cited 2024 Mar 1];120(8):1190–4. Available from: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.1104492>
 54. Amin MM, Ebrahim K, Hashemi M, Shoshtari-Yeganeh B, Rafiei N, Mansourian M, et al. Association of exposure to Bisphenol A with obesity and cardiometabolic risk factors in children and adolescents. *Int J Environ Health Res* [Internet]. 2019 Jan 2 [cited 2024 Mar 1];29(1):94–106. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09603123.2018.1515896>
 55. Verstraete SG, Wojcicki JM, Perito ER, Rosenthal P. Bisphenol a increases risk for presumed non-alcoholic fatty liver disease in Hispanic adolescents in NHANES 2003-2010. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2024 Mar 1];17(1):1–8. Available from: <https://ehjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12940-018-0356-3>
 56. Shankar A, Teppala S, Sabanayagam C. Bisphenol A and Peripheral Arterial Disease: Results from the NHANES. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2012 [cited 2024 Mar 1];120(9):1297–300. Available from: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.1104114>
 57. Melzer D, Gates P, Osborn NJ, Henley WE, Cipelli R, Young A, et al. Urinary Bisphenol A Concentration and Angiography-Defined Coronary Artery Stenosis. *PLoS One* [Internet]. 2012 Aug 15 [cited 2024 Mar 1];7(8):e43378. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0043378>
 58. Leung YK, Govindarajah V, Cheong A, Veevers J, Song D, Gear R, et al. Gestational high-fat diet and bisphenol A exposure heightens mammary cancer risk. *Endocr Relat Cancer* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2024 Mar 1];24(7):365–78. Available from: <https://erc.bioscientifica.com/view/journals/erc/24/7/365.xml>
 59. Tse LA, Lee PMY, Ho WM, Lam AT, Lee MK, Ng SSM, et al. Bisphenol A and other environmental risk factors for prostate cancer in Hong Kong. *Environ Int*. 2017 Oct 1;107:1–7.

60. Gao L, Dong Y, Lin R, Meng Y, Wu F, Jia L. The imbalance of Treg/Th17 cells induced by perinatal bisphenol A exposure is associated with activation of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in male offspring mice. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2023 Jul 12];137. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32028014/>
61. Hercog K, Maisanaba S, Filipič M, Sollner-Dolenc M, Kač L, Žegura B. Genotoxic activity of bisphenol A and its analogues bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF and their mixtures in human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells. *Science of The Total Environment*. 2019 Oct 15;687:267–76.
62. Sendra M, Štampar M, Fras K, Novoa B, Figueras A, Žegura B. Adverse (geno)toxic effects of bisphenol A and its analogues in hepatic 3D cell model. *Environ Int*. 2023 Jan 1;171:107721.
63. Thoene M, Dzika E, Gonkowski S, Wojtkiewicz J. Bisphenol S in Food Causes Hormonal and Obesogenic Effects Comparable to or Worse than Bisphenol A: A Literature Review. [cited 2023 Sep 20]; Available from: www.mdpi.com/journal/nutrients
64. Wang R, Fei Q, Liu S, Weng X, Liang H, Wu Y, et al. The bisphenol F and bisphenol S and cardiovascular disease: results from NHANES 2013-2016. *Environ Sci Eur* [Internet]. 2022 [cited 2023 Sep 21];34:4. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00586-9>
65. Jiang Y, Li J, Xu S, Zhou Y, Zhao H, Li Y, et al. Prenatal exposure to bisphenol A and its alternatives and child neurodevelopment at 2 years. *J Hazard Mater*. 2020 Apr 15;388:121774.
66. Pelch KE, Li Y, Perera L, Thayer KA, Korach KS. Characterization of Estrogenic and Androgenic Activities for Bisphenol A-like Chemicals (BPs): In Vitro Estrogen and Androgen Receptors Transcriptional Activation, Gene Regulation, and Binding Profiles. *Toxicological Sciences*. 2019;172(1):23–37.
67. Keminer O, Teigeler M, Kohler M, Wenzel A, Arning J, Kaßner F, et al. A tiered high-throughput screening approach for evaluation of estrogen and androgen receptor modulation by environmentally relevant bisphenol A substitutes. *Science of the Total Environment*. 2020;717.
68. Montes-Grajales D, Morelos-Cortés X, Olivero-Verbel J. Discovery of new protein targets of bpa analogs and derivatives associated with noncommunicable diseases: A virtual high-throughput screening. *Environ Health Perspect*. 2021 Mar 1;129(3).



3D BIOTISK KOT INOVATIVNA METODA ZA MODELIRANJE RAKA JAJČNIKOV

3D BIOPRINTING AS AN INNOVATIVE METHOD FOR MODELING OVARIAN CANCER

AVTORJI / AUTHOS:

Vesna Kokondoska Grgič, mag. bioteh.^{1,2}

doc. dr. Maša Sinreih, mag. farm.¹

prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.³

viš. znan. sod., asist. dr. Ivana Jovčevska, inž. kem.^{1,4}

¹ Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta,
Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko,
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

² Kemomed Research and Development,
Brnčičeva ulica 31, 1231 Ljubljana

³ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko biologijo,
Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana

⁴ Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta,
Center za funkcijsko genomiko in biočipe,
Inštitut za biokemijo in molekularno genetiko,
Zaloška cesta 4, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: ivana.jovcevska@mf.uni-lj.si

POVZETEK

Rak jajčnikov je heterogena bolezen s kompleksnim tumorskim mikrookoljem. Zdravljenje poteka s kirurškim posegom, ki mu sledi kemoterapija. Velik izziv zdravljenja predstavlja pridobljena kemorezistenca. Da bi natančno proučili mehanizme napredovanja raka jajčnikov, so do sedaj najpogosteje uporabljali 2D celične kulture in živalske modele. Novejše raziskave kažejo, da so 3D kulture ustreznejši model za raziskovanje biologije raka jajčnikov in testiranje zdravilnih učinkovin. Sodobne tehnologije, kot je 3D biotisk, omogočajo konstrukcijo kompleksnih struktur in ustvarjanje 3D celičnih modelov, ki so boljši približek naravni arhitekturi tumorja. 3D mono- ali kokulture so primernejše za odkrivanje novih proteinskih tarč in visokozmogljivo presejanje zdravilnih učinkovin. Razvoj kompleksnih 3D kultur bo prispeval k boljšemu razumevanju raka jajčnikov in identifikaciji učinkovitejših zdravilnih učinkovin.

KLJUČNE BESEDE:

3D biotisk, 3D modeli celičnih kultur, invazija, migracija, rak jajčnikov, sferoidi

ABSTRACT

Ovarian cancer is a heterogeneous disease with a complex tumour microenvironment. Current treatment consists of surgery followed by chemotherapy. Acquired chemoresistance is a major challenge in the treatment. To study the mechanisms of ovarian cancer progression in detail, mostly 2D cell cultures and animal models have been used so far. Recent studies show that 3D cultures are a more appropriate model for studying ovarian cancer biology and testing therapeutics. Modern technologies, such as 3D bioprinting, enable the construction of complex structures and the creation of 3D cellular models that better represent the natural architecture of the tumour. 3D mono- or co-cultures are better suited for the discovery of new protein targets and high-throughput screening of medicinal agents. The development of complex 3D cultures will contribute to a better understanding of ovarian cancer and the identification of more effective therapeutics.

KEY WORDS:

3D bioprinting, 3D cell culture models, invasion, migration, ovarian cancer, spheroids

1 UVOD

Rak jajčnikov je najsmrtonosnejši ginekološki rak ter peti vodilni vzrok smrti zaradi raka pri ženskah po vsem svetu. Pojavlja se primarno pri ženskah po menopavzi in je zaradi nespecifičnih simptomov diagnosticiran v napredni fazi bolezni. Čeprav je zdravljenje raka jajčnikov v zadnjem desetletju bistveno napredovalo, je petletna stopnja preživetja bolnic z rakom jajčnika še vedno pod 30 % (1–3). Glavni izziv zdravljenja raka jajčnikov predstavlja pridobljena kemorezistenca (4).

Da bi natančno proučili mehanizme napredovanja raka jajčnikov, so do sedaj najpogosteje uporabljali 2D celične kulture in živalske modele. Rak jajčnikov je zelo heterogena bolezen s kompleksnim tumorskim mikrookoljem, ki ga je težko oponašati z 2D modeli celičnih kultur in tudi z živalskimi modeli. Kljub vsestranski uporabnosti je omejitev 2D celičnih kultur njihova poenostavljenost, ki ne odraža dejanskega stanja *in vivo* (5, 6). Mišji modeli raka jajčnikov so se nedvomno izkazali kot koristni za pridobitev informacij

o biologiji raka in tudi za predklinično preskušanje zdravilnih učinkovin (7). Večina teh modelov temelji na ksenotransplantaciji človeških celic raka jajčnikov v miši z imunsko pomanjkljivostjo. Slabosti teh modelov sta nepopolno posnemanje interakcij med celicami in gostiteljem ter nezmožnost modeliranja zgodnje faze tumorskega razvoja (7).

Pomanjkanje ustreznega modela *in vitro*, ki bi lahko reproduciral naravno tumorsko okolje, prispeva k manjši uspešnosti predkliničnih raziskav novih zdravilnih učinkovin (8). Vpeljava 3D celičnih modelov *in vitro* za testiranje novih zdravilnih učinkovin za zdravljenje raka jajčnikov predstavlja nov pristop, ki bo spremenil potek predkliničnih raziskav ter posledično zdravljenje raka jajčnikov (9). 3D celične kulture gojimo v neadherentnih ali nizkoadherentnih pogojih, kot so plošče z ultranizko pritrditvijo (*ultra-low attachment (ULA) plates*). Pri teh pogojih površine plošč niso obdelane s proteini zunajceličnega matriksa (npr. kolagen, fibronektin, laminin), ki olajšajo pritrnitev celic in tako omogočijo tvorbo uniformnih sferoidov z nizko variabilnostjo in visoko ponovljivostjo izvedenih poskusov.

Razvili so številne metodologije in tehnike za učinkovito ustvarjanje 3D celičnih modelov (8, 10–12). Najpogosteje uporabljeni 3D modeli raka jajčnikov so večcelični tumorski

Preglednica 1: Obstoječi sferični modeli raka jajčnikov (13).

Table 1: Current spherical ovarian cancer models (13).

3D model	Nastanek	Prednosti	Slabosti	Uporaba pri raziskavah
Večcelični tumorski sferoidi	nastajajo v neadherentnih pogojih iz enoceličnih suspenzijskih kultur	<ul style="list-style-type: none"> - kompaktni - reproducirajo dinamike tumorja <i>in vivo</i> (morfologija, celične interakcije, aktivacija poti ERK1/2 MAPK in PI3K ± AKT) 	<ul style="list-style-type: none"> - časovno potratni postopki za optimizacijo in karakterizacijo modela - pomanjkanje literaturnih virov 	<ul style="list-style-type: none"> - odpornost na ionizirajoče sevanje - občutljivost in odpornost na kemoterapijo - visokozmogljivo testiranje zdravil - migracija - invazija - hipoksija - metabolizem raka - angiogeneza
Sferoidi rakavih matičnih celic, t. i. tumorsferoidi	nastajajo v nizkoadherentnih pogojih v gojišču za matične celice	<ul style="list-style-type: none"> - hierarhijska organizacija - prisotnost redkih matičnih rakavih celic - sposobnost tvorbe tumorjev v modelih <i>in vivo</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - ne posnemajo rakavega tkiva - ne replicirajo 3D strukture in mikrookolja tumorja <i>in vivo</i> - pomanjkanje označevalcev celične površine - odsotnost morfološkega fenotipa zaradi nestabilnosti fenotipa matičnih celic 	<ul style="list-style-type: none"> - odziv na kemoterapijo - personalizirano testiranje protirakavih učinkovin - sposobnost večlinijske diferenciacije - analiza rakavih matičnih celic



Sferoidi tumorjev, pridobljenih iz tkiv	nastajajo iz rakavih celic po delni disociaciji rakavega tkiva	<ul style="list-style-type: none"> - sposobnost rekapitulacije avaskularne tumorske mikroregije - posnamejo histološke karakteristike raka, profil genskega izražanja, mutacije, tumorigen in metastatski potencial 		<ul style="list-style-type: none"> - napovedovanje odziva bolnika na kemoterapijo - metastatski potencial
Organotipski večcelični sferoidi	nastajajo z gojenjem rakavega tkiva <i>ex vivo</i> brez disociacije	<ul style="list-style-type: none"> - najbolj podobni tumorjem <i>in vivo</i> - morfološko podobni izvornim tumorjem - povzamejo heterogenost raka - ohranjajo prisotnost makrofagov in žil s progastimi vlakni kolagena, povezanimi s fibroblasti - stabilni genetski profil 	- heterogeni modeli	<ul style="list-style-type: none"> - učinek protirakavih učinkovin - migracija - invazija

sferoidni modeli, sferoidi rakavih matičnih celic, t. i. tumorsferoidi, sferoidi tumorjev, pridobljenih iz tkiv, in organotipski večcelični sferoidi (preglednica 1) (13). Metode 3D biotiska pri raku jajčnikov so zaenkrat še manj razvite.

Čeprav še vedno ni popolnega 3D modela *in vitro*, ki bi nadomestil trenutne predklinične modele *in vivo*, razvoj novih metod in tehnologije premika področje k natančnejšemu pristopu proučevanja tumorjev in odzivu na zdravilne učinkovine (14, 15).

2 RAK JAJČNIKOV IN NJEGOVO ZDRAVLJENJE

Rak jajčnikov predstavlja heterogeno skupino tumorjev (5). Glede na histologijo in stopnjo diferenciacije ga tradicionalno delimo na tumorje tipov I in II. Tip I so večinoma tumorji nižjih gradusov z dobro diferenciacijo, ki predstavljajo 25 % primerov in vključujejo serozne, endometrioidne,

svetlocelične in mucinozne tumorje. Tumorji tipa I izvirajo iz predneoplastičnih lezij ali endometrioze, običajno napredujejo počasi in imajo boljšo prognozo. Tumorji tipa II so serozni karcinomi visokega gradusa (HGSOC), ki nastanejo *de novo* iz površinskega epitelijskega jajčnikov ali jajcevodov in predstavljajo več kot 70 % vseh primerov raka jajčnikov (16, 17).

Zdravljenje raka jajčnikov je običajno operativno, sledi kemoterapija, kot je prikazano na sliki 1. Najpogosteje uporabljena zdravila za kemoterapijo so derivati platine in takساني. Ta zdravila inducirajo apoptozo v tumorskih celicah (18). Trenutno ciljno zdravljenje uporabljamo samo za izboljšanje učinkovitosti standardnega zdravljenja. Ena izmed novih možnosti zdravljenja vključuje zaviralce encima poli-ADP-riboza polimeraze (zaviralci PARP), kot je zdravilo olaparib. Proteini PARP so vključeni v regeneracijo celic po poškodbah, ki jih povzroči kemoterapija. Zaviralci PARP ustavijo regeneracijo celic in posledično rast tumorja (16). Druga možnost zdravljenja vključuje bevacuzimab, monoklonsko protitelo, ki zavira vaskularni endotelijski rastni dejavnik A (VEGF-A) in blokira angiogenezo. Raziskave kažejo

tudi, da so zaviralci tirozin kinaz RTK (npr. zdravilna učinkovina ponatinib) učinkoviti pri zdravljenju različnih malignih rakov z zaviranjem proliferacije tumorskih celic (19). Zaviralci imunskih kontrolnih točk, kot sta pembrolizumab in nivolumab, ki sta najpogosteje uporabljana v onkologiji za zdravljenje HGSOČ sta v zgodnjih kliničnih fazah. Gre za monoklonska protitelesa, ki sprožijo aktivacijo imunskih celic T za napad na rakave celice. Terapija z modificiranimi celicami T (CAR-T) je učinkovita pri zdravljenju hematoloških malignih bolezni, vendar je njen uspeh pri zdravljenju solidnih tumorjev omejen zaradi slabe učinkovitosti in visokih stroškov (20). Terapija s transgenimi T-limfocitnimi receptorji (TCR-T) predstavlja alternativni način zdravljenja za tovrstne tumorje (20). Medtem ko so pri terapiji CAR-T tarčni antigeni le proteini celične površine, TCR-T lahko prepozna tudi fragmente znotrajceličnih proteinov, če so prikazani na molekulah poglobitnega histokompatibilnostnega kompleksa (MHC). To je tako prednost kot slabost TCR-T, saj je odvisna od predstavitve molekul na MHC. Pri imunološko neodzivnih tumorjih bo imela somatska izguba HLA-1 negativen

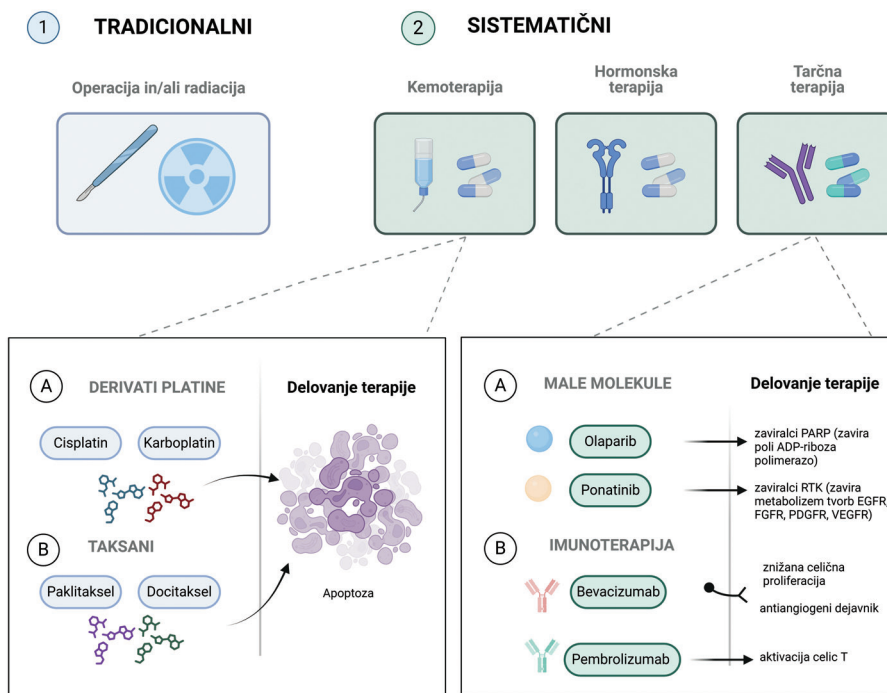
vpliv na TCR-T. CAR-T je kljub temu vstopila v predklinična preskušanja (21). Za zdravljenje raka jajčnikov sta CAR-T in TCR-T trenutno v začetnih fazah kliničnega preskušanja (20, 22).

Konvencionalno zdravljenje ni specifično, cilja na splošne podobnosti fiziologije rakavih celic in ne na posamezne dejavnike, ki se pojavijo pri pacientkah. To omejuje učinkovitost zdravljenja in vodi do neželenih kliničnih izidov ter ponovitve raka, ki pa je odporen na zdravljenje. Zato so potrebni novi, selektivni načini zdravljenja.

3 MODELNE CELIČNE LINIJE RAKA JAJČNIKOV

Gojenje 2D tumorskih celičnih linij raka jajčnikov je preprosto, poceni in omogoča učinkovito testiranje različnih zdravilnih učinkovin. Vendar ti modeli ne reproducirajo tumor-

NAČINI ZDRAVLJENJA RAKA JAJČNIKOV



Slika 1: Načini zdravljenja raka jajčnikov. Izdelano s pomočjo BioRender.com.

Figure 1: Ovarian cancer treatment methods. Content created by using BioRender.com.

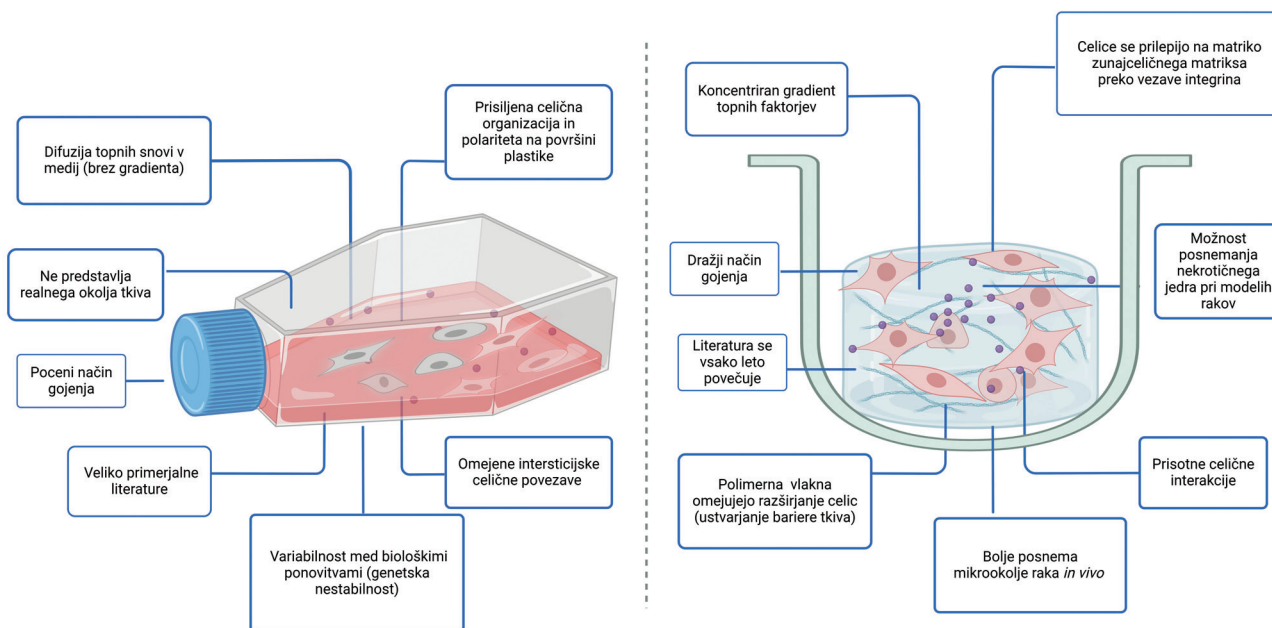
skega mikrookolja zaradi pomanjkanja medsebojne povezanosti in prisotnosti zunajceličnega ogrodja, vključno z molekulami, kot so kolagen, elastin, glikoproteini, glikozaminoglikani, proteoglikani in rastni dejavniki, ki so ključni za vpliv terapije. Celični modeli ne zajemajo epigenetske, inter- in intratumorske kompleksnosti ter ne simulirajo infiltracije celic, nekroze tumorja in mikrovaskularne proliferacije (23, 24). Poleg tega so številne signalne poti, ki so vključene v kemorezistenco, spremenjeno aktivirane v enoslojnih kulturah, kar daje veliko lažno pozitivnih rezultatov pri rešetanjih z uporabo 2D celičnih modelov (25, 26).

3D celični modeli so postali ključni del celične biologije, saj verodostojno reproducirajo značilnosti in mikrookolje rakavih celic. Primerjava modelov 2D in 3D celičnih kultur je prikazana na sliki 2 ter podrobno opisna v preglednem članku Zottel in sod. (25). Uporaba 3D modelov omogoča natančnejšo reprodukcijo fizioloških pogojev, vključno s kompleksnimi interakcijami med celicami in zunajceličnim ogrodjem. Zato so 3D celični modeli pogosto občutljivejši na terapije z zdravilnimi učinkovinami. Raziskave kažejo, da so celice v notranosti tumorja, ki so povezane z zunajceličnim ogrodjem, odpornejše na zdravljenje v primerjavi s tistimi, ki niso v stiku z zunajceličnim ogrodjem (27, 28). To poudarja pomembnost uporabe 3D modelov pri simu-

laciji realnih pogojev in pridobivanju relevantnejših rezultatov pri raziskavah in testiranjih.

Domcke in sod. so 47 celičnih linij raka jajčnikov razvrstili glede na njihovo genetsko podobnost s HGSOC (26). Nato so Barnes in sod. z uporabo transkriptomskih podatkov 45 pogosto uporabljenih celičnih linij raka jajčnikov razvrstili v pet skupin, ki predstavljajo pet glavnih podtipov raka jajčnikov (29). Haley in sod. so sistematično proučevali nabor 2D celičnih linij HGSOC ter spremljali proliferacijo, klonogenost, fenotip, epitelno-mezenhimske transformacije in odpornost na cisplatin. Ugotovili so, da so najbolj agresivne celične linije OVCAR-5, OVCAR-8 in Kuramochi. Celična linija COV362 je bila najbolj odporna na cisplatin, medtem ko je bila Caov-3 najbolj odzivna (30). Takšna sistematična karakterizacija predstavlja dragocen vir informacij pri razvoju aplikacij, kot so modeliranje bolezni, genetske in epigenetske raziskave, temeljne raziskave, raziskave raka ter razvoj in testiranje zdravilnih učinkovin. Za 3D modele podobne karakterizacije še niso naredili.

Trenutno je visoko zmogljivo reševanje z uporabo modelov 3D celičnih kultur še vedno v razvoju, čeprav so sferoidi pokazali spodbudne rezultate, pripomogli pa so tudi k odkrivanju novih proteinskih tarč v tumorskem mikrookolju. Protokoli za pripravo 3D celičnih modelov so preprosti za



Slika 2: Primerjava 2D in 3D modelov celičnih kultur. Izdelano s pomočjo BioRender.com.

Figure 2: Comparison between 2D and 3D cell culture models. Content created by using BioRender.com.

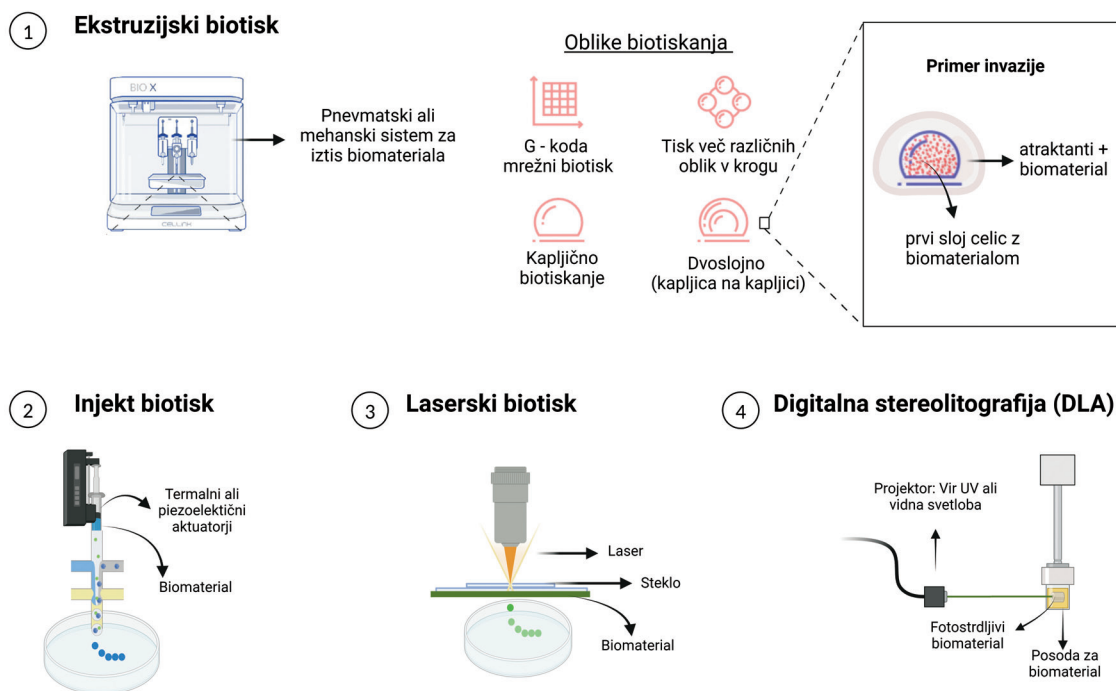
uporabo in prenosljivi na različne formate mikrotitrskih plošč, kot so plošče s 96 ali 384 vdolbinami (8, 31).

4 METODE 3D BIOTISKA

Med 3D celične modele uvrščamo večcelične tumorske sferoidne modele, sferoide rakavih matičnih celic, t. i. tumorsferoide, sferoide tumorjev, pridobljenih iz tkiv, in organotipske večcelične sferoide. 3D celične modele lahko pripravimo z ogrodjem in brez ogrodja (25). Glavni namen ogrodja je posnemanje naravnega zunajceličnega ogrodja. Le-ta celicam zagotavlja mehansko podporo, omogoča medcelično komunikacijo ter aktivira ključne celične procese (npr. adhezija, migracija, proliferacija in diferenciacija). 3D biotisk je ena izmed metod, s katero pripravljamo sferoide z ogrodjem.

3D biotisk je napredna tehnika, ki omogoča konstrukcijo kompleksnih struktur za ponazoritev naravne arhitekture tkiv *in vitro*. Od leta 2014 to metodo uporabljamo za ustvarjanje 3D modelov v laboratorijih po vsem svetu (32). Biotiskanje omogoča nadzor nad mehanskimi in biološkimi lastnostmi 3D struktur z visoko ločljivostjo v ravninah X, Y in Z. S pomočjo specializiranih biomaterialov lahko odziv ali aktivnost celic natančno prilagodimo, tako da posnemajo okolje *in vivo*. Biočrnilo za 3D biotisk je specializirana snov, ki jo uporabljamo za ustvarjanje 3D struktur z natančnim plastenjem biomaterialov, zmešanih z živimi celicami. Razvoj pri formulaciji biomaterialov, pristopih za križno povezovanje ter računalniško podprtem oblikovanju je razširil uporabo 3D biotiska na področjih tkivnega inženiringa, regenerativne medicine in presejalnih testov za zdravila (25). Poznavanje različnih metod 3D biotiska, kot so stereolitografija, inkjet biotiskanje, lasersko biotiskanje in ekstruzijski biotisk, ter razumevanje prednosti in slabosti teh metod bosta pomagala izbrati ustrezno metodo biotiska za aplikativno uporabo v znanosti (preglednica 2 in slika 3).

TEHNIKE 3D BIOTISKA



Slika 3: Grafični prikaz najpogosteje uporabljenih tehnik 3D biotiska. Izdelano s pomočjo BioRender.com.

Figure 3: Graphic representation of the most commonly used 3D bioprinting techniques. Content created by using BioRender.com.

Preglednica 2: Prednosti in slabosti različnih tehnik 3D biotiskanja.
Table 2: Advantages and disadvantages of different 3D bioprinting techniques.

Metode 3D biotiska	Viskoznost biočrnila (mPa·s)	Resolucija biotiska (µm)	Celična gostota (celic/mL)	Živost celic (%)	Prednosti	Slabosti	Referenca
Stereolitografija	< 5000	25	10^6 – 10^7	> 85	<ul style="list-style-type: none"> - brez strižnih sil na celicah - visoka natančnost tiska - izdelava kompleksnih struktur - integracija več materialov - izdelava mikrofluidnih čipov 	<ul style="list-style-type: none"> - možnost citotoksičnega vpliva - izključno fotopolimerizirajoči materiali - visoki stroški 	(33, 34)
Inkjet biotisk	3,5–12	30–50	< 10^6	70–95	<ul style="list-style-type: none"> - visoka celična preživelost - hitro biotiskanje - visokozmogljiva metoda 	<ul style="list-style-type: none"> - nizki celična gostota in viskoznost biočrnila - ne doseže uniformne velikosti kapljic - zahtevno tiskanje več različnih celičnih podtipov hkrati 	(35)
Laserski biotisk	1–8000	10–100	10^7 – 10^8	> 95	<ul style="list-style-type: none"> - brez strižnih sil na celicah - visoka natančnost tiska - izdelava kompleksnih struktur - integracija več materialov 	<ul style="list-style-type: none"> - možnost citotoksičnega vpliva - zapleten protokol za pripravo biotiskalnika - visoki stroški 	(36)
Ekstruzijski biotisk	6 – 30×10^7	200–1000	10^8	50–85	<ul style="list-style-type: none"> - visoki celična gostota in viskoznost biočrnila - večcelični modeli - koaksialno biotiskanje (mešanje dveh materialov hkrati) - izdelava kompleksnih struktur - integracija več materialov - cenovno ugodno - dostopni protokoli, razvoj 	<ul style="list-style-type: none"> - možnost poškodbe celic zaradi visokega pritiska - nizka resolucija in hitrost tiskanja materialov 	(37, 38)

Stereolitografija temelji na polimerizaciji na svetlobo občutljivega biočrnila, pri čemer kot vir osvetlitve uporabljamo ultravijolično (UV) svetlobo. UV svetloba omogoča izjemno hitro procesiranje, ki se lahko izvaja na dva različna načina. Pri tehniki, ki temelji na laserju, se strjevanje vsake plasti doseže točkovno, s pomočjo sistema za optično skeniranje (slika 3). Po drugi strani pristop digitalne svetlobne projekcije uporablja digitalno napravo z mikro ogledali za križanje celotnega prereza 3D strukture (39).

Inkjet biotiskanje vključuje nadzorovano sproščanje biočrnila na substrat s pomočjo termičnih ali zvočnih pritiskov. Termično brizgalno biotiskanje vključuje manipulacijo biočrnila s toploto (slika 3), kar povzroči njegovo izparevanje in iztis iz šobe (40).

Lasersko biotiskanje je tehnika, ki uporablja utripajoči laserski žarek na tristranski trak, sestavljen iz lasersko prepustnega stekla, lasersko absorbirajočega kovinskega sloja (na primer titana ali zlata) in biočrnila (slika 3). Ta pristop ne zahteva šobe in ne vključuje neposrednega stika. Energija laserskega žarka se absorbira v tristranskem traku, kar hitro povzroči tvorbo lokaliziranega mehurčka na nasprotni strani. Mehurček nato iztisne določeno količino biočrnila na sprejemno podlago (28).

Ekstruzijski biotisk uporablja pritisk za iztis biočrnila v nadzorovani razporeditvi (slika 3), da se ustvari zelena 3D biotiskana struktura (41). Tehnika je združljiva z različnimi biomateriali (42). Pogoji pri ekstruzijskem biotisku so dovolj mili, da omogočajo preživetje celic ter posledično uporabo široke palete celic in tkivnih konstruktov z edinstvenimi lastnostmi pri fiziološko relevantnih gostotah celic (43). Zaradi vsestranskosti, preprostosti in stroškovne učinkovitosti je ta metoda trenutno najpogosteje uporabljena metoda 3D biotiska, ki jo uporabljamo predvsem na področjih tkivnega inženirstva in regenerativne medicine (44). Ekstruzijski biotisk so uspešno uporabili za ustvarjanje *in vitro* kože, hrustanca, rekonstrukcije kolena, mišičnega tkiva, maščobnega tkiva, krvnih žil in organoidov (43, 45–47).

5 UPORABA 3D BIOTISKA ZA MODELIRANJE RAKA JAJČNIKOV

Najpogosteje uporabljena tehnika za 3D biotiskanje modela raka jajčnikov je ekstruzijski biotisk. Tehnik, ki temeljijo na principu stereolitografije, inkjet in laserskega biotiska, v literaturi do sedaj še niso opisali za modeliranje raka jajčnikov. Najpogosteje uporabljeni biomateriali so naravni poli-

meri na osnovi celuloze in kolagena, alginati in tudi polsintezni polimer želatine in metakrilata (*gelatin-methacryloyl*, GelMA).

S pomočjo ekstruzijskega biotiskalnika so znanstveniki natisnili kokulturni model in uporabili celične linije raka jajčnikov OVCAR-5 in fibroblastov MRC-5, ki so bili natisnjeni na osnovi kapljičnega biotiskanja v kombinaciji z biopolimerom. Tvorili so ponovljive večcelične konstrukte z nadzorovano velikostjo konstrukta. Ta pristop lahko služi kot inovativni kokulturni model, ki vključuje tumorske in stromalne celice ter obeta zmogljivo in robustno reševanje zdravilnih učinkovin (41, 48, 49). Biotiskanje ni le koristno pri ustvarjanju biološko in fiziološko relevantnih modelov, temveč tudi omogoča konstrukcijo modelov, povezanih z normalnimi tkivi za analizo učinkovitosti in neželenih učinkov hkrati (6). Druga raziskava opisuje 3D biotiskani model raka jajčnikov, pripravljen iz želatine in alginata z vključenimi rakavimi celicami SKOV-3 in z rakom povezanimi fibroblasti (*cancer-associated fibroblasts*, CAF). Opazili so, da se celice v takem 3D modelu samodejno združujejo v agregate in da celice CAF obkrožajo rakave celice. Rezultati so pokazali, da celice na obrobju strukture bolj proliferirajo oz. se delijo v primerjavi s celicami v sredini, ker so bolj izpostavljene hranilom in kisiku, kar kaže na vzpostavitev gradienta plinov in hranil skozi biotiskane strukture, ki je ena glavnih značilnosti naravnih tumorjev (50).

Z uporabo ekstruzijskega biotiskalnika ter biomaterialov GelMA in alginata so znanstveniki leta 2021 izdelali 3D tiskan model jajčnika *in vitro*. Uporabili so komercialno dostopne celične linije COV434, KGN in ID8 ter primarne somatske celice jajčnika za izvedbo tiskanja 3D struktur z vključenimi celicami. Rezultati so pokazali, da je GelMA primeren za izdelavo 3D tiskanih struktur, saj so zadostovali kriterijem meritve higroskopnosti, kinetike razgradnje in ohranjanja oblike biomateriala. Preživetje somatskih celic jajčnikov je bilo nižje kot pri komercialnih celičnih linijah. Kljub temu je sistem 3D tiskanja na osnovi GelMA zagotavljal ustrezno mikrookolje za folikle jajčnika, ki so uspešno rasli, počili ter sprostili zrelo jajčece v opornih strukturah (51).

6 PROUČEVANJE MIGRACIJE IN INVAZIJE S POMOČJO 3D BIOTISKANJA

Razumevanje, kako rakave celice migrirajo ter kako mehanska in kemijska sestava zunajceličnega ogrodja vplivata



na migracijo, je ključno za raziskovanje metastatskega procesa, ki je odgovoren za večino smrti, povezanih z rakom. Migracijo in invazijo povezujemo z napredovanjem raka in razvili so številne metode z namenom razumevanja teh procesov, vključno z migracijskimi testi z uporabo transmembranskih komor, testi celjenja ran, testi območja izključitve celic in sledenjem celic v času pri 2D celičnih kulturah (52).

Pri nastanku metastaz raka jajčnikov se posamezne celice ali skupki celic, ki izvirajo iz tumorja, razširijo s peritonealno tekočino po trebušni votlini in tvorijo večcelične tumorske sferoide ali agregirane tumorje. Ta pojav je težko reproducirati *in vitro* z uporabo tradicionalnih 2D enoslojnih celičnih kultur, ker ne izražajo celičnih površinskih proteinov, potrebnih za tvorbo metastaz v takšni meri kot 3D celične kulture (53, 54).

Uporaba 3D biotiska kot metoda za izdelavo ogrodij v testih celične migracije ali invazije ponuja alternativo običajnim tehnikam. S pomočjo 3D biotiska lahko ustvarjamo večnamenske strukture z natančnimi oblikami, kot so kapljice, kapljica na kapljicah ali kompleksnejše oblike. Biomateriali, uporabljeni v teh testih, morajo biti kompatibilni s celičnimi linijami ter zagotavljati ustrezno prepustnost za prehajanje hranil in kisika. Po drugi strani mora imeti biomaterial dobro opredeljene mehanske lastnosti, kot so elastičnost, togost in poroznost (55). Togost izbranih polimerov, ki simulirajo zunajcelično ogrodje, ima ključno vlogo pri modeliranju invazije in migracije pri 3D modelih (56, 57). Kolagen iz zunajceličnega ogrodja, ki obdaja tumorje, je ključen za preoblikovanje tumorskega mikrookolja. V 3D modeliranju najpogosteje uporabljamo kolagen tipa I (58). V zdravem parenhimskem tkivu je območje tlaka od 440 Pa do 770 Pa (59, 60). V primeru tumorskega tkiva se tlak poviša do največ 35.000 Pa. Višja stopnja togosti v primerjavi z zdravim tkivom nastane zaradi preureditve kolagena znotraj tumorskega mikrookolja (61). Raziskovalci so ugotovili, da vključitev telopeptidnih regij na konicah molekul kolagena v strukturo biomateriala vodi do povečane togosti, kar zagotavlja večjo stabilnost znotraj kulture. Primer telopeptidnega biopolimera je TeloCol-10, sestavljen iz 95 % kolagena tipa I in 5 % kolagena tipa III. Uporaba telopeptidnih biomaterialov ima pomembno vlogo pri optimizaciji protokolov za proučevanje invazije, saj celice iz predhodno natisnjene sferoide lahko preidejo v naslednji sloj biomateriala. S pomočjo gojitvenega medija in atraktantov lahko bolj ciljno izzovemo proces invazije in merimo časovno obdobje prehajanja celice iz točke 0 v točko 1, saj se celice premikajo v smeri atraktantov in hranil. Te aplikacije zahtevajo daljše inkubacijske čase za opazovanje celičnega

obnašanja. Uporabne so tudi za spremljanje učinka dodatnih zdravilnih učinkovin (62).

7 SKLEP

Področje 3D biotiska je v zadnjih petih letih doseglo znaten tehnološki napredek in postalo najobetavnejši pristop za razvoj 3D konstruktov tumorskega tkiva, ki jih je mogoče uporabiti kot modele za proučevanje biologije raka in reševanje novih zdravilnih učinkovin. V primerjavi z 2D modeli 3D modeli raka natančneje reproducirajo značilnosti dejanskih tumorjev, vključno z interakcijami med celicami ter med celicami in zunajceličnim ogrodjem. Biotiskanje ima potencial za izboljšanje modeliranja tumorskega mikrookolja *in vitro* na področju 3D modelov. Izbor tehnike biotiskanja temelji na različnih kriterijih, vključno z vrsto uporabljenih biomaterialov, želenimi dimenzijami, obliko in kompleksnostjo izdelanih modelov *in vitro*. Biotisk omogoča natančno razporeditev različnih celic z biomaterialom, kar vodi v ustvarjanje zapletenih 3D struktur, ki posnemajo mikroarhitekturo tumorja, in je lahko uporaben pri proučevanju molekularnih in bioloških vzrokov raka. Vključitev tehnologije 3D biotiska za pripravo ponovljivega 3D modela raka jajčnikov bo omogočila hitro in učinkovito testiranje več zdravilnih učinkovin. Obstoječe metode biotiskanja je mogoče še izboljšati, ustvariti nove biomaterialne in doseči pravo ravnovesje med biološkimi in mehanskimi dejavniki za ustvarjanje zapletenejših in bolj realističnih modelov raka *in vitro*. Dodatno bi lahko tehnike 3D biotiskanja napredovale v četrto dimenzijo z uporabo pametnih materialov in nanodelcev, ki se lahko odzovejo na zunanje dražljaje. To bi omogočilo simulacijo različnih stopenj raka s programiranjem širjenja in/ali razgradnje hidrogelnega matriksa.

8 IZJAVA

Pregledni članek je rezultat sodelovanja avtoric Vesne Kokondoske Grgič, Maše Sinreih in Ivane Jovčevske v sklopu aplikativnega projekta L4-4565 in programa P1-0390, financiranih s strani ARIS. Pregledni članek je tudi rezultat sodelovanja prof. Boruta Štruklja in Vesne Kokondoske Grgič med doktorskim usposabljanjem.

9 LITERATURA

- Bast RC, Jr., Hennessey B, Mills GB. The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(6):415-28.
- Torre LA, Trabert B, DeSantis CE, Miller KD, Samimi G, Runowicz CD, et al. Ovarian cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(4):284-96.
- IAfRo C. Globocan 2020 2020 [Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/25-Ovary-fact-sheet.pdf>].
- Aletti GD, Gallenberg MM, Cliby WA, Jatoi A, Hartmann LC. Current management strategies for ovarian cancer. *Mayo Clin Proc*. 2007;82(6):751-70.
- Vaughan S, Coward JI, Bast RC, Jr., Berchuck A, Berek JS, Brenton JD, et al. Rethinking ovarian cancer: recommendations for improving outcomes. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(10):719-25.
- Liu T, Delavaux C, Zhang YS. 3D bioprinting for oncology applications. *J 3D Print Med*. 2019;3(2):55-8.
- Wu R, Hendrix-Lucas N, Kuick R, Zhai Y, Schwartz DR, Akyol A, et al. Mouse model of human ovarian endometrioid adenocarcinoma based on somatic defects in the Wnt/beta-catenin and PI3K/Pten signaling pathways. *Cancer cell*. 2007;11(4):321-33.
- Tofani LB, Abriata JP, Luiz MT, Marchetti JM, Swiech K. Establishment and characterization of an in vitro 3D ovarian cancer model for drug screening assays. *Biotechnol Prog*. 2020;36(6):e3034.
- Belfiore L, Aghaei B, Law AMK, Dobrowolski JC, Raftery LJ, Tjandra AD, et al. Generation and analysis of 3D cell culture models for drug discovery. *Eur J Pharm Sci*. 2021;163:105876.
- Ciucci A, Buttarelli M, Fagotti A, Scambia G, Gallo D. Preclinical models of epithelial ovarian cancer: practical considerations and challenges for a meaningful application. *CMLS*. 2022;79(7):364.
- Lee JM, Mhawech-Fauceglia P, Lee N, Parsanian LC, Lin YG, Gayther SA, et al. A three-dimensional microenvironment alters protein expression and chemosensitivity of epithelial ovarian cancer cells in vitro. *Lab Invest*. 2013;93(5):528-42.
- Loessner D, Holzapfel BM, Clements JA. Engineered microenvironments provide new insights into ovarian and prostate cancer progression and drug responses. *Adv Drug Deliv Rev*. 2014;79-80:193-213.
- Weiswald LB, Bellet D, Dangles-Marie V. Spherical cancer models in tumor biology. *Neoplasia*. 2015;17(1):1-15.
- White EA, Kenny HA, Lengyel E. Three-dimensional modeling of ovarian cancer. *Adv Drug Deliv Rev*. 2014;79-80:184-92.
- Yee C, Dickson KA, Muntasir MN, Ma Y, Marsh DJ. Three-Dimensional Modelling of Ovarian Cancer: From Cell Lines to Organoids for Discovery and Personalized Medicine. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022;10:836984.
- Stewart C, Ralyea C, Lockwood S. Ovarian Cancer: An Integrated Review. *Semin Oncol Nurs*. 2019;35(2):151-6.
- Palmirotta R, Silvestris E, D'Oronzo S, Cardascia A, Silvestris F. Ovarian cancer: Novel molecular aspects for clinical assessment. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017;117:12-29.
- Chen X, Wu Y, Dong H, Zhang CY, Zhang Y. Platinum-based agents for individualized cancer treatment. *Curr Mol Med*. 2013;13(10):1603-12.
- Banerjee S, Gonzalez-Martin A, Harter P, Lorusso D, Moore KN, Oaknin A, et al. First-line PARP inhibitors in ovarian cancer: summary of an ESMO Open - Cancer Horizons round-table discussion. *ESMO open*. 2020;5(6):e001110.
- Wu JWY, Dand S, Doig L, Papenfuss AT, Scott CL, Ho G, et al. T-Cell Receptor Therapy in the Treatment of Ovarian Cancer: A Mini Review. *Front Immunol*. 2021;12:672502.
- Daigre J, Martinez-Osuna M, Bethke M, Steiner L, Dittmer V, Krischer K, et al. Preclinical Evaluation of Novel Folate Receptor 1-Directed CAR T Cells for Ovarian Cancer. *Cancers (Basel)*. 2024;16(2).
- Deng M, Tang F, Chang X, Liu P, Ji X, Hao M, et al. Immunotherapy for Ovarian Cancer: Disappointing or Promising? *Mol Pharmaceutics*. 2024;21(2):454-66.
- Pernik MN, Bird CE, Traylor JI, Shi DD, Richardson TE, McBrayer SK, et al. Patient-Derived Cancer Organoids for Precision Oncology Treatment. *J Pers Med*. 2021;11(5).
- Zhang C, Jin M, Zhao J, Chen J, Jin W. Organoid models of glioblastoma: advances, applications and challenges. *Am J Cancer Res*. 2020;10(8):2242-57.
- Zottel A, Kokondoska Grgič V, Sinreih M. 3D celični modeli in njihova uporaba pri testiranju protirakavih zdravilnih učinkovin. *Farm Vestn*. 2023;74(5):362-70.
- Domcke S, Sinha R, Levine DA, Sander C, Schultz N. Evaluating cell lines as tumour models by comparison of genomic profiles. *Nat Commun*. 2013;4:2126.
- Ipek S, Ustundag A, Can Eke B. Three-dimensional (3D) cell culture studies: a review of the field of toxicology. *Drug Chem Toxicol*. 2023;46(3):523-33.
- Law AMK, Rodriguez de la Fuente L, Grundy TJ, Fang G, Valdes-Mora F, Gallego-Ortega D. Advancements in 3D Cell Culture Systems for Personalizing Anti-Cancer Therapies. *Front Oncol*. 2021;11:782766.
- Barnes BM, Nelson L, Tighe A, Burghel GJ, Lin IH, Desai S, et al. Distinct transcriptional programs stratify ovarian cancer cell lines into the five major histological subtypes. *Genome Med*. 2021;13(1):140.
- Haley J, Tomar S, Pulliam N, Xiong S, Perkins SM, Karpf AR, et al. Functional characterization of a panel of high-grade serous ovarian cancer cell lines as representative experimental models of the disease. *Oncotarget*. 2016;7(22):32810-20.
- Kurman RJ, Shih Ie M. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded. *AJP*. 2016;186(4):733-47.
- Hoch E, Tovar GE, Borchers K. Bioprinting of artificial blood vessels: current approaches towards a demanding goal. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2014;46(5):767-78.
- Miri AK, Nieto D, Iglesias L, Goodarzi Hosseinabadi H, Maharjan S, Ruiz-Esparza GU, et al. Microfluidics-Enabled Multimaterial Maskless Stereolithographic Bioprinting. *Adv Mater*. 2018;30(27):e1800242.
- Grigoryan B, Sazer DW, Avila A, Albritton JL, Padhye A, Ta AH, et al. Development, characterization, and applications of multi-material stereolithography bioprinting. *Sci Rep*. 2021;11(1):3171.
- Zhang J, Chen F, He Z, Ma Y, Uchiyama K, Lin JM. A novel approach for precisely controlled multiple cell patterning in microfluidic chips by inkjet printing and the detection of drug metabolism and diffusion. *The Analyst*. 2016;141(10):2940-7.
- Dou C, Perez V, Qu J, Tsin A, Xu B, Li J. A State-of-the-Art Review of Laser-Assisted Bioprinting and its Future Research Trends. *ChemBioEng Reviews*. 2021;8.
- Malekpour A, Chen X. Printability and Cell Viability in Extrusion-Based Bioprinting from Experimental, Computational, and Machine Learning Views. *J Funct Biomater*. 2022;13(2).



38. Ramesh S, Harrysson OLA, Rao PK, Tamayol A, Cormier DR, Zhang Y, et al. Extrusion bioprinting: Recent progress, challenges, and future opportunities. *Bioprinting*. 2021;21:e00116.
39. Skoog SA, Goering PL, Narayan RJ. Stereolithography in tissue engineering. *J Mater Sci: Mater Med*. 2014;25(3):845-56.
40. Cui X, Boland T, D'Lima DD, Lotz MK. Thermal inkjet printing in tissue engineering and regenerative medicine. *Recent Pat Drug Deliv Formul*. 2012;6(2):149-55.
41. Cui H, Nowicki M, Fisher JP, Zhang LG. 3D Bioprinting for Organ Regeneration. *Adv Healthc Mater*. 2017;6(1).
42. Ma X, Liu J, Zhu W, Tang M, Lawrence N, Yu C, et al. 3D bioprinting of functional tissue models for personalized drug screening and in vitro disease modeling. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018;132:235-51.
43. Placone JK, Engler AJ. Recent Advances in Extrusion-Based 3D Printing for Biomedical Applications. *Adv Healthc Mater*. 2018;7(8):e1701161.
44. Idaszek J, Costantini M, Karlsen TA, Jaroszewicz J, Colosi C, Testa S, et al. 3D bioprinting of hydrogel constructs with cell and material gradients for the regeneration of full-thickness chondral defect using a microfluidic printing head. *Biofabrication*. 2019;11(4):044101.
45. Tarassoli SP, Jessop ZM, Al-Sabah A, Gao N, Whitaker S, Doak S, et al. Skin tissue engineering using 3D bioprinting: An evolving research field. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2018;71(5):615-23.
46. Datta P, Ayan B, Ozbolat IT. Bioprinting for vascular and vascularized tissue biofabrication. *Acta Biomater*. 2017;51:1-20.
47. You F, Eames BF, Chen X. Application of Extrusion-Based Hydrogel Bioprinting for Cartilage Tissue Engineering. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7).
48. Trivedi P, Liu R, Bi H, Xu C, Rosenholm JM, Akerfelt M. 3D Modeling of Epithelial Tumors-The Synergy between Materials Engineering, 3D Bioprinting, High-Content Imaging, and Nanotechnology. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12).
49. Xu F, Celli J, Rizvi I, Moon S, Hasan T, Demirci U. A three-dimensional in vitro ovarian cancer coculture model using a high-throughput cell patterning platform. *Biotechnol J*. 2011;6(2):204-12.
50. Baka Z, Godier C, Lamy L, Mallick A, Gribova V, Figarol A, et al. A Coculture Based, 3D Bioprinted Ovarian Tumor Model Combining Cancer Cells and Cancer Associated Fibroblasts. *Macromol Biosci*. 2023;23(3):e2200434.
51. Wu T, Gao YY, Su J, Tang XN, Chen Q, Ma LW, et al. Three-dimensional bioprinting of artificial ovaries by an extrusion-based method using gelatin-methacryloyl bioink. *Climacteric*. 2022;25(2):170-8.
52. Kramer N, Walz A, Unger C, Rosner M, Krupitza G, Hengstschlager M, et al. In vitro cell migration and invasion assays. *Mutat Res*. 2013;752(1):10-24.
53. Chaicharoenaudomrung N, Kunhorn P, Noisa P. Three-dimensional cell culture systems as an in vitro platform for cancer and stem cell modeling. *World J Stem Cells*. 2019;11(12):1065-83.
54. Duval K, Grover H, Han LH, Mou Y, Pegoraro AF, Fredberg J, et al. Modeling Physiological Events in 2D vs. 3D Cell Culture. *Physiology (Bethesda)*. 2017;32(4):266-77.
55. Ramiah P dTL, Choonara YE, Kondiah PPD, Pillay V. Hydrogel-Based Bioinks for 3D Bioprinting in Tissue Regeneration. *Front Mater*. 2020;7:76.
56. Acerbi I, Cassereau L, Dean I, Shi Q, Au A, Park C, et al. Human breast cancer invasion and aggression correlates with ECM stiffening and immune cell infiltration. *Integr Biol (Camb)*. 2015;7(10):1120-34.
57. Levental KR, Yu H, Kass L, Lakins JN, Egeblad M, Erler JT, et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell*. 2009;139(5):891-906.
58. Pickup MW, Mouw JK, Weaver VM. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO reports*. 2014;15(12):1243-53.
59. Bourgot I, Primac I, Louis T, Noel A, Maquoi E. Reciprocal Interplay Between Fibrillar Collagens and Collagen-Binding Integrins: Implications in Cancer Progression and Metastasis. *Front Oncol*. 2020;10:1488.
60. de Hilster RHJ, Sharma PK, Jonker MR, White ES, Gercama EA, Roobeek M, et al. Human lung extracellular matrix hydrogels resemble the stiffness and viscoelasticity of native lung tissue. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2020;318(4):L698-L704.
61. Sohutskey DO, Puls TJ, Voytik-Harbin SL. Collagen Self-assembly: Biophysics and Biosignaling for Advanced Tissue Generation. In: Zhang Y, editor. *Multi-scale Extracellular Matrix Mechanics and Mechanobiology*. Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 203-45.
62. Takata M, Maniwa Y, Doi T, Tanaka Y, Okada K, Nishio W, et al. Double-layered collagen gel hemisphere for cell invasion assay: successful visualization and quantification of cell invasion activity. *Cell Commun Adhes*. 2007;14(4):157-67.

VLOGA ELEKTROPORACIJE PRI PRIPRAVI ZDRAVIL ZA NAPREDNO ZDRAVLJENJE

THE ROLE OF ELECTROPORATION FOR THE PREPARATION OF ADVANCED THERAPY MEDICINAL PRODUCTS

AVTORICI / AUTHORS:

znanst. sod. dr. Maša Kandušer, univ. dipl. biol.
prof. dr. Irena Mlinarič-Raščan, mag. farm.

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

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: masa.kanduser@ffa.uni-lj.si

POVZETEK

Napredek znanosti na področju biomedicine omogoča razvoj zdravil za napredno zdravljenje z gensko, celično in tkivno terapijo, ki temelji na vnosu rekombinantnih genov, uporabi modificiranih somatskih celic ali pa je namenjena obnovi, nadomestitvi ali regeneraciji tkiva. Za pripravo izdelkov za napredne terapije lahko uporabimo elektroporacijo, ki jo dosežemo tako, da celice izpostavimo kratkim visokopetostnim električnim pulzom. Rezultat elektroporacije je začasna reverzibilna ali trajna ireverzibilna permeabilizacija celične membrane. Reverzibilno elektroporacijo uporabljamo za elektrokemoterapijo, gensko elektrotransfekcijo in za elektrofuzijo celic. Ireverzibilno elektroporacijo pa uporabljamo za netermalno ablacijo tkiv in odstranjevanje celične vsebine. Za uspešno uporabo elektroporacije je potrebno poznati osnovne mehanizme elektroporacije in ključne parametre, ki določajo uspešnost metode. Zdravila za napredno zdravljenje lahko pripravimo z reverzibilno elektroporacijo, ki jo uporabimo za gensko, celično in tkivno terapijo ter za pripravo nekaterih celičnih cepiv na osnovi imunohibridomov, ki jih pripravimo z elektrofuzijo. Ireverzibilno elektroporacijo lahko uporabimo za pripravo biokompatibilnih opor v tkivni terapiji.

KLJUČNE BESEDE:

zdravila za napredno zdravljenje, elektrofuzija, elektrogenska transfekcija

ABSTRACT

Advances in biomedicine enhanced the development of advanced therapy medicinal products for gene, cell and tissue therapy, based on recombinant gene delivery, modified somatic cells or are used for restoring, replacing or regenerating of tissues. Electroporation is suitable to prepare products for advanced therapies. Electroporation is achieved when we expose cells to short, high-voltage electric pulses that cause temporary, reversible, or permanent, irreversible permeabilization of the cell membrane. Reversible electroporation is used for electrochemotherapy, gene electrotransfection and for electrofusion. Irreversible electroporation is used for non-thermal tissue ablation and for extraction of the cellular contents. For successful use of electro-



poration, we need to understand the mechanisms and parameters that affect the outcome. For the development of advance therapy medicinal products reversible electroporation can be used for gene, cell and tissue therapy and for cell vaccines based on immuno-hybridoma. Irreversible electroporation is suitable for the preparation of biocompatible supports in tissue therapy.

KEY WORDS:

advance therapy medicinal products, electrofusion, electrogene transfer

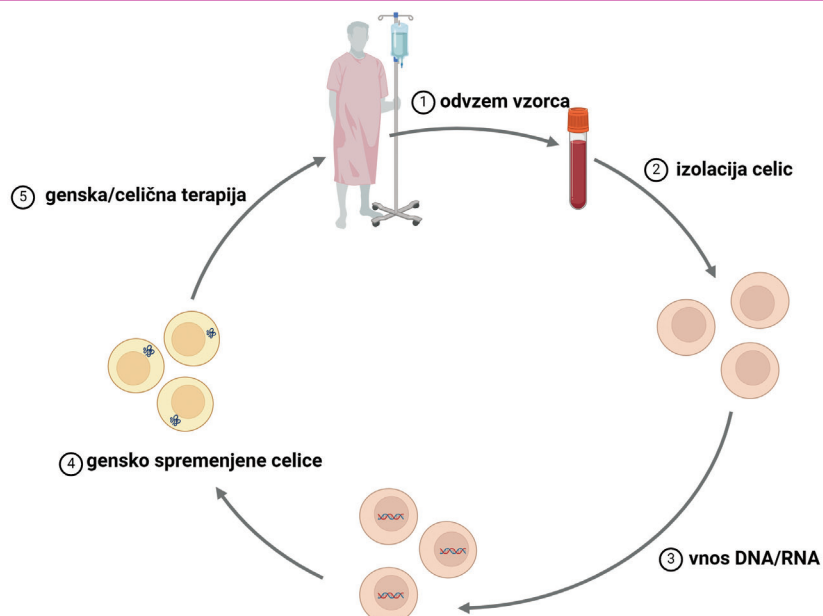
1 UVOD

Napredek na področju medicine, genetike in biotehnologije omogoča razvoj novih načinov zdravljenja bolezni. Med take načine sodijo tudi zdravila za napredno zdravljenje (*advanced therapy medicinal products*, ATMP).

Glede na način delovanja razdelimo terapijo na tri skupine: gensko, ki temelji na vnašanju rekombinantnih genov, celično, ki temelji na uporabi modificiranih ali nemodificiranih somatskih celic, in na tkivno terapijo, ki je namenjena obnovi, nadomestitvi ali regeneraciji tkiva (1, 2).

Priprava zdravil za napredno zdravljenje je dolgotrajen postopek, ki ga sestavlja več različnih faz, med katerimi so ključne: odvzem vzorca periferne krvi, priprava celic in zdravljenje s pripravkom. Za pripravo zdravil za napredno zdravljenje lahko uporabimo celice pacienta (avtologna terapija) ali celice darovalca (alogeno terapija) (1).

Potek priprave zdravila za napredno zdravljenje je prikazan na sliki 1. Najpogosteje pacientu odvzamejo vzorec periferne krvi, izolirajo enojedrne celice (*peripheral blood mononuclear cell*, PBMC), jih z ustreznimi metodami modificirajo in uporabijo za zdravljenje. Biotehnološke metode, ki omogočajo ustrezno modifikacijo celic za pripravo zdravil za napredno zdravljenje v grobem razdelimo na dve skupini: metode virusne transdukcije in fizikalne ali kemične metode transfekcije. Transdukcija temelji na uporabi virusnih vektorjev, med katerimi so za genske in večino celičnih terapij najpogostejši retrovirusni ali lenti-virusni vektorji (3). Za celične terapije z induciranimi plu-



Slika 1: Primer priprave zdravila za napredno zdravljenje ex vivo za avtologo gensko ali celično terapijo. Iz vzorca periferne krvi izoliramo enojedrne celice (PBMC), ki jih spremenimo z različnimi virusnimi ali nevirusnimi metodami. V celice vnesemo izbrane rekombinantne gene, da dobimo gensko spremenjene celice, ki jih uporabimo za gensko ali celično terapijo. Slika je bila pripravljena z BioRender.com.

Figure 1: An example of ex vivo ATMP preparation for autologous gene or cell therapy. Mononuclear cells are isolated from the peripheral blood sample, which is modified by various viral or non-viral methods. Selected recombinant genes are introduced into cells to obtain genetically modified cells that are used for gene or cell therapy. The image was created with BioRender.com.

ripotentnimi matičnimi celicami (*induced pluripotent stem cells*, iPSC) pa lentivirusne vektorje zamenjuje virus Sendai (4). Zaradi potencialne nevarnosti uporabe virusnih vektorjev razvijajo tudi različne druge metode vnosa nukleinskih kislin v celice.

Med nevirusne metode transfekcije sodi tudi elektroporacija, biofizikalna metoda, ki temelji na uporabi kratkih visokonapetostnih električnih pulzov. Električni pulzi povzročijo strukturne in biokemijske spremembe lipidnega dvosloja celične membrane (5, 6) in omogočijo vnos malih in velikih molekul v celico, zlivanje celic in odstranjevanje celične vsebine. Elektroporacija si je utrla pot v različne biotehnoške aplikacije (5, 7–10) in v klinično prakso (11–14). V onkologiji uporabljajo elektroporacijo za vnos kemoterapevtikov, v postopku, znanem kot elektrokemoterapija (13, 14), ki jo uporabljamo za zdravljenje površinskih tumorjev (11–13, 15). V kliničnem okolju se uveljavlja tudi metoda, ki temelji na odstranjevanju celične vsebine z elektroporacijo, omogoča pa netermalno ablacijo tumorjev, ki jih ne moremo odstraniti kirurško, ker se nahajajo v neposredni bližini vitalnih organov (11, 15–17). Odstranjevanje celične vsebine je primerno tudi za pripravo biokompatibilnih mehanskih opor v tkivni terapiji (16, 18).

Elektroporacijo izvajamo z elektroporatorjem, generatorjem visokonapetostnih električnih pulzov, pomemben pa je tudi izbor elektrod, ki omogočijo ustrezno aplikacijo pulzov na izbrano tkivo. Na tržišču je na voljo več različnih modelov elektroporatorjev in elektrod, ki se razlikujejo po namenu uporabe in omogočajo izbiro različnih električnih pulzov (19). Klinični elektroporatorji za uporabo v medicini morajo ustrezati kriterijem ISO 13485, ki zagotavljajo varnost in kakovost medicinskih naprav (20, 21). Za raziskovalne namene je na voljo več različnih elektroporatorjev, ki se razlikujejo po možnostih nastavljanja elektroporacijskih parametrov in omogočajo uporabo ene ali več različnih vrst elektrod. Elektroporacijski parametri se razlikujejo po obliki, trajanju in številu dovedenih pulzov (20–22). Najpogostejše elektrode so kivete z vgrajenimi elektrodami, ravne kovinske elektrode, žičnate elektrode in različne vrste igelnih elektrod (20). V Sloveniji je bilo razvitih več različnih elektroporatorjev, namenjenih klinični in raziskovalni uporabi (20).

Pogosto za raziskave na področju zdravljenja napredno zdravljenje uporabljamo elektroporatorje, za katere nam ni potrebno poznati elektroporacijskih mehanizmov, ne omogočajo pa optimizacije elektroporacijskih protokolov. Take elektroporatorje tržijo skupaj z elektroporacijskimi mediji, katerih vsebina ni znana (20, 22).

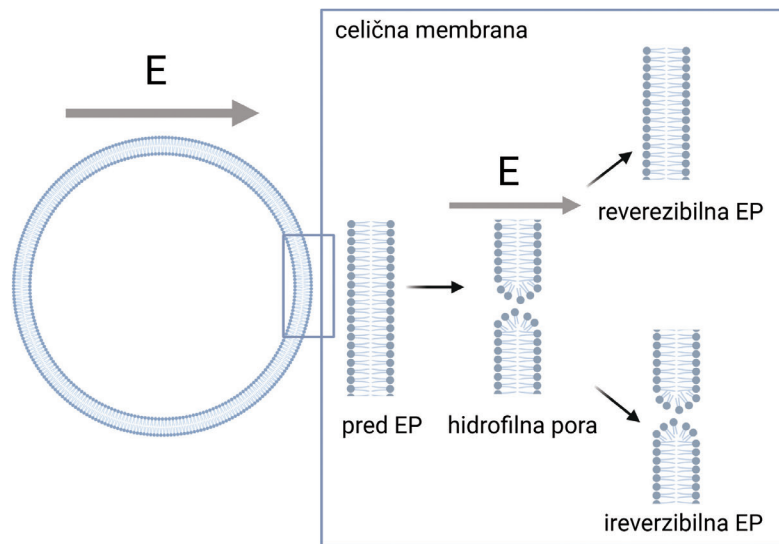
2 OSNOVNI MEHANIZMI ELEKTROPORACIJE IN PARAMETRI, KI VPLIVAJO NA USPEŠNOST METODE

Ko celice izpostavimo kratkim visokonapetostnim električnim pulzom, povečamo prepustnost celične membrane. Zaradi povečane prepustnosti postanejo celice dovzetne za privzem manjših ali večjih molekul, vključno z RNA in DNA. Permeabilizirana celična membrana preide tudi v fuzogeno stanje in omogoči zlivanje celic. Če pred dovajanjem električnih pulzov vzpostavimo stik med celicami, se na stiku permeabilnih struktur začne postopek zlivanja lipidnih dvoslojev, ki vodi do nastanka hibridomov, celic z več jedri.

Ključni dejavnik za nastanek permeabilnih struktur v celični membrani je vsiljena transmembranska napetost (*induced transmembrane voltage*, ITV), ki je posledica zunanjega električnega polja. Vsiljena transmembranska napetost nastane zaradi razlik v električnih lastnostih zunanjega medija in celične membrane. Odvisna je od oblike in velikosti celice ter lastnosti električnih pulzov. Najvišje vrednosti vsiljene transmembranske napetosti nastanejo na polih celice, ki so orientirani v smeri zunanjega električnega polja (7), zato na teh mestih opazimo tudi permeabilizacijo membrane. V lipidnem dvosloju nastanejo najprej hidrofobne pore, ki se ob dovolj visoki inducirani transmembranski napetosti reorientirajo v hidrofilne pore, skozi katere poteka transport molekul med celico in okolico. Poenostavljen potek, ki prikazuje reorientacijo lipidnih molekul, je predstavljen na sliki 2. Električni pulzi povzročijo tudi peroksidacijo lipidov, ki vpliva na nastanek permeabilnih struktur (5, 23).

Ločimo med reverzibilno in ireverzibilno elektroporacijo. Pri obeh je pomembno, da dosežemo kritično transmembransko napetost, ki povzroči strukturne spremembe lipidnega dvosloja (slika 2). Pri reverzibilni elektroporaciji ne smemo preseči vrednosti, ki bi preveč poškodovala celično membrano in povzročila celično smrt. Pri ustrezno izbranih električnih pulzih se po prenehanju delovanja električnega polja elektroporacijske pore zacelijo in celica vzpostavi svoje naravno ravnovesje in fiziološke funkcije. Proces celjenja membrane je odvisen od temperature in vrste celic, pri vseh celicah pa se membrane najhitreje zacelijo pri fiziološki temperaturi (7, 23, 24). Namen ireverzibilne elektroporacije pa je preseči kritično vrednost in preprečiti celjenje membrane. Na ta način lahko odstranjujemo celice iz tkiva ali dostopamo do celične vsebine (7).





Slika 2: Poenostavljen shematski prikaz poteka elektroporacije (EP) celične membrane. Pred dovajanjem električnih pulzov je celična membrana v semipermeabilnem stanju in ima fiziološki transmembranski potencial (TMP), ki znaša med -40 in -70 mV. Posledica izpostavljenosti visokonapetostnim električnim pulzom je vsiljena transmembranska napetost (ITV), ki povzroči strukturne in biokemijske spremembe membranskih lipidov. Če ITV preseže kritično vrednost, pride do reorientacije fosfolipidnih molekul in do nastanka hidrofilnih por, skozi katere poteka transport majhnih in velikih molekul. Elektroporacija je reverzibilna ali ireverzibilna, odvisno od parametrov električnih pulzov in velikosti in občutljivosti celice. Slika je bila pripravljena z BioRender.com

Figure 2: Simplified schematic representation of electroporation on the cell membrane. Before application of electric pulses, the cell membrane is in a semi-permeable state and has a physiological transmembrane potential (TMP) between -40 and -70 mV. The consequence of exposure to high-voltage electric pulses is the induced transmembrane voltage (ITV), which causes structural and biochemical changes in membrane lipids. If ITV exceeds the critical value, the reorientation of phospholipid molecules takes place, and hydrophilic pores are formed enabling transport of small and large molecules. Electroporation is reversible or irreversible, depending on the parameters of electric pulses and the size and sensitivity of the cell. The image was created with BioRender.com

Pomembno je vedeti, da so za različne aplikacije elektroporacije primerni različni električni pulzi (10, 15). Za vnos genov v pogojih *in vivo* uporabljamo tudi kombinacijo visokonapetostnih mikrosekundnih pulzov in nizkonapetostnih milisekundnih pulzov (7, 25). Za ireverzibilno elektroporacijo pa je potrebno z matematičnim modeliranjem določiti primerne parametre, da določimo ustrezen elektroporacijski prag in da se izognemo nepotrebnemu segrevanju tkiva (16, 17).

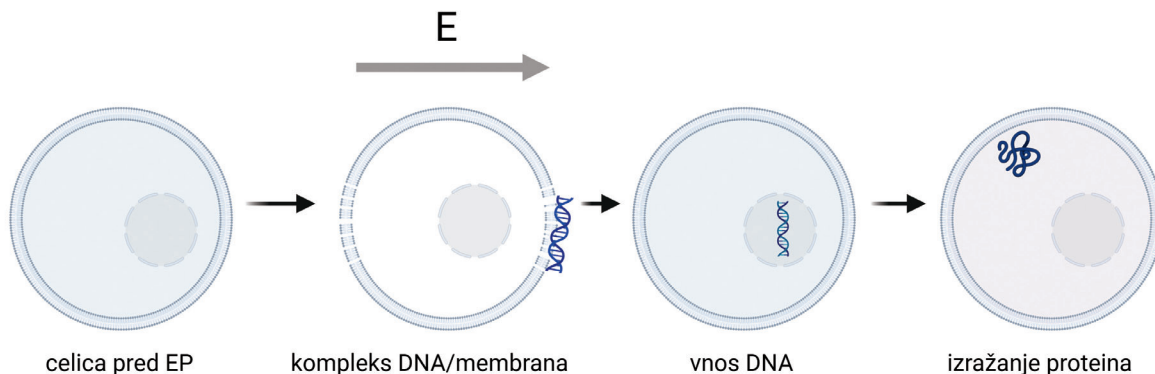
2.1 ELEKTROTRANSFEKCIJA, ELEKTROFUZIJA IN IREVERZIBILNA ELEKTROPORACIJA

Elektroporacijo uporabljamo za gensko, celično ali tkivno terapijo, vendar pri vsaki od terapij uporabimo drugačne parametre. Za vnos rekombinantnih genov in gensko modifikacijo celic uporabljamo električne pulze, ki omogočajo najučinkovitejši vnos genskega materiala, pri pripravi celi-

čnih cepiv na osnovi imunohibridomov uporabimo elektrofuzijo, za tkivno terapijo pa z ireverzibilno elektroporacijo pripravimo tkivne oporne strukture.

2.2 VNOS NUKLEINSKIH KISLIN

Izraz elektrogenska transfekcija uporabljamo takrat, ko z elektroporacijo v celice ali tkivo vnašamo molekule DNA ali RNA. Za vnos molekul DNA največkrat pripravimo primerne plazmide, ki kodirajo terapevtski protein. Pri elektrogenski transfekciji molekule DNA zaradi svojega negativnega naboja vstopajo v celico pretežno na enem polu permeabilizirane membrane (8, 26–28). Zaradi tega pojava lahko uspešnost vnosa izboljšamo tako, da s primerno frekvenco obračamo smer električnega polja in tako dobimo večjo površino, skozi katero DNA vstopa v celico (27, 28). Raziskave mehanizmov elektrogenske transfekcije so pokazale, da vnos genskega materiala v celico poteka v več fazah. Začne se s permeabilizacijo celične membrane, sledi

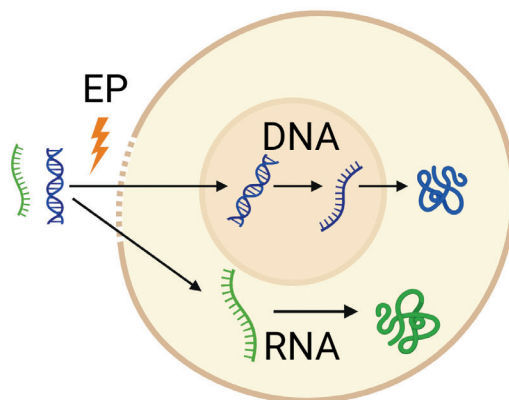


Slika 3: Shematski prikaz vnosa genskega materiala v celico z elektroporacijo. Celico izpostavimo električnim pulzom, ki povzročijo permeabilizacijo celične membrane. Molekula DNA, ki ima negativen naboj, tvori kompleks s permeabilizirano celično membrano. Po reverzibilni elektroporaciji se celična membrana zaceli, DNA vstopi v citoplazmo, preide v jedro in po določenem času se v celici izrazi protein, ki ga kodira vneseni gen. Slika je bila pripravljena z BioRender.com

Figure 3: Schematic representation of the introduction of genetic material into the cell by electroporation. The cell is exposed to electric pulses that cause cell membrane permeabilization. A negatively charged DNA forms a complex with a permeabilized cell membrane. After reversible electroporation the cell membrane reseals, DNA enters the cell, passes into the nucleus and a protein encoded by the introduced gene is expressed in the cell. The image was created with BioRender.com

tvorba kompleksa med DNA in permeabilizirano membrano, nato vstop v celico, transport v jedro in izražanje vnesenega transgena (slika 3). Tvorbo kompleksa lahko izboljšamo tako, da uporabimo kombinacijo visokonapetostnih mikrosekundnih in nizkonapetostnih milisekundnih pulzov, ker nizkonapetostni pulz zaradi elektroforeze omogoči kopičenje DNA na permeabilizirani membrani (25, 26, 29). Kako preide molekula DNA iz kompleksa DNA-membrana v celico, še ni povsem pojasnjeno, možna mehan-

izma pa sta translokacija DNA skozi pore ali z električnimi pulzi stimulirana endocitoza (8). Pot vnesenega genskega materiala v celici je odvisna od vrste molekule. Molekula DNA mora priti v jedro, kjer se vneseni gen prepíše v RNA in nato v funkcionalni protein, molekula RNA pa se že v citoplazmi prepíše v protein (slika 4). Za uspešno gensko elektrotransfekcijo je potrebno ohraniti čim večji delež živih celic, ker je izražanje vnesenega gena odvisno od stanja celic po elektroporaciji. Pomembno je,



Slika 4: Shematski prikaz razlik med molekulama DNA in RNA, ki smo jih v celico vnesli z elektroporacijo (EP). DNA vstopi v jedro, se prepíše v RNA in nato v protein, RNA pa se v citoplazmi prepíše v protein. Slika je bila pripravljena z BioRender.com

Figure 4: Schematic diagram of the differences between DNA or RNA molecules introduced into the cell by electroporation (EP). DNA must enter the nucleus where it is transcribed into RNA, and then into protein, while RNA is transcribed into a protein in the cytoplasm. The image was created with BioRender.com



da pri izbiri daljših milisekundnih električnih pulzov uporabimo nizkopredvodni elektroporacijski pufer, ki zmanjša Joulovo segrevanje in termične poškodbe celic (17).

2.3 ELEKTROFUZIJA

Elektroporacijo uporabljamo tudi za zlivanje celic z elektrofuzijo. O celični fuziji govorimo takrat, ko pride do zlivanja dveh ali več celic v celico, ki vsebuje več jeder. Proces zlivanja celic je naravni del razvoja nekaterih tkiv, je pa tudi sestavni del biotehnoloških postopkov za pripravo monoklonskih protiteles ali celičnih cepiv (30). Raziskave mehanizmov elektrofuzije kažejo, da tudi ta proces poteka v več fazah, pomembno vlogo pa igrajo kakovost celičnega stika (9, 31), permeabilizacija, ki omogoči prehod membrane v fuzogeno stanje (31), in lipidna sestava celične membrane (32). Shematski potek elektrofuzije je prikazan na sliki 5. Enako kot pri elektrogenski transfekciji je tudi za uspešno elektrofuzijo pomembno, da fuzijska partnerja, to sta celici v postopku zlivanja, preživita.

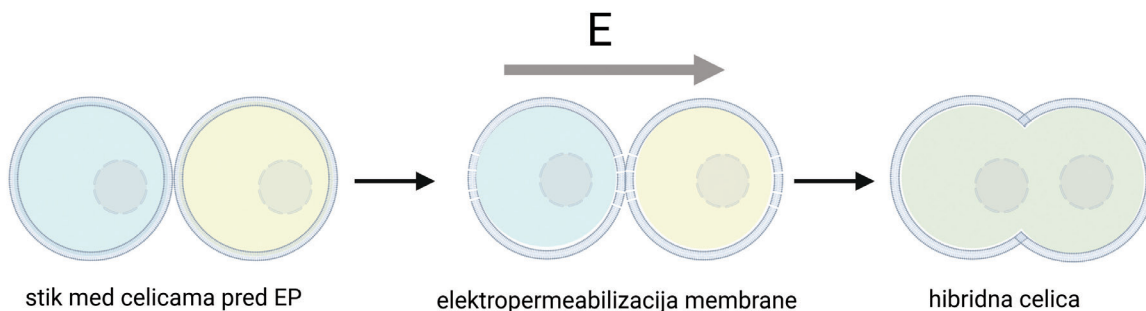
2.4 IREVERZIBILNA ELEKTROPORACIJA

Za razliko od elektrogenske transfekcije in elektrofuzije, za kateri je ključnega pomena dobro preživetje celic, pa pri ireverzibilni elektroporaciji želimo doseči permeabilizacijo celične membrane, ki bo vodila v celično smrt. V tem primeru morajo izbrani električni pulzi preseči vrednost, pri

kateri bi celica po elektroporaciji lahko zacelila svojo membrano. Leta 2005 so odkrili, da je ireverzibilna elektroporacija primerna metoda za ablacijo mehkih tkiv in takrat si je utrla pot v klinično prakso, uporablja pa se za netermalno ablacijo tumorjev in tkiv (11, 17, 33), za zdravljenje srčnih aritmij (34) in za pripravo tkivnih opor. Pri tej aplikaciji je še bolj pomembno, da uporabimo električne pulze, ki zmanjšajo Joulovo segrevanje na najnižjo možno vrednost. Pri ireverzibilni elektroporaciji je potrebno poznati lastnosti tkiva in z matematičnim modeliranjem določiti električne parametre in geometrijo elektrod (17).

3 UPORABA ELEKTROPORACIJE PRI PRIPRAVI ZDRAVIL ZA NAPREDNO ZDRAVLJENJE

Elektroporacijo uporabljajo za pripravo vseh različnih zdravil za napredno zdravljenje. Primerna je kot ne-virusna metoda vnosa genskega materiala v celico v pogojih *ex vivo* ali *in vivo*, za pripravo induciranih pluripotentnih matičnih celic, celičnih cepiv s celično fuzijo ali za pripravo tkivnih opornih struktur *ex vivo*. Večina kliničnih raziskav na tem področju je namenjena zdravljenju raka (10, 35, 36). Za gensko terapijo je značilno vnašanje genov, ki sprožijo profilaktični ali diagnostični učinek. Namenjena je predvsem zdravljenju genskih bolezni, imunoterapiji raka, med pan-



Slika 5: Shematski prikaz elektrofuzije. Z ustrežno metodo vzpostavimo stik med celicama. Celici izpostavimo električnim pulzom, ki povzročijo permeabilizacijo celične membrane. Permeabilna celična membrana preide v fuzogeno stanje, ki omogoči zlivanje lipidnih dvoslojev sosednjih celic. Sledi tvorba enotne celične membrane, zlivanje citoplazem obeh fuzijskih partnerjev in nastanek hibridne celice. Slika je bila pripravljena z BioRender.com

Figure 5: Schematic diagram of electrofusion. Contact between the cells is established by appropriate method. The cells are exposed to electric pulses that cause cell membrane permeabilization. The permeable cell membrane becomes fusogenic which allows lipid bilayers of adjacent cells to fuse. This is followed by the formation of a single cell membrane, fusion of the cytoplasm of both fusion partners and the formation of a hybrid cell. The image was created with BioRender.com

demijo covid-19 pa so različni proizvajalci razvili tudi cepiva za to infekcijsko bolezen (3).

Pri izdelavi genskih zdravil za napredno zdravljenje je pomembna izbira terapevtskega gena, vektorja in metode vnosa. Elektroporacija je primerna izbira, kadar se želimo izogniti virusnim vektorjem. Gensko terapijo lahko izvedemo na dva načina; terapevtski gen vnesemo *in vivo* ali pa najprej pripravimo gensko modificirane celice *ex vivo* in jih pozneje uporabimo za zdravljenje. Agencije za zdravila v Evropi, ZDA, na Japonskem, v Kanadi, Južni Koreji in drugih državah so v zadnjih 20 letih odobrile več zdravil za napredno zdravljenje, namenjenih genski terapiji (37, 38), za pripravo katerih so proizvajalci največkrat uporabili virusne vektorje (37). Potekajo pa tudi številne klinične raziskave na področju onkologije, pri katerih za vnos genov uporabljajo elektrogensko transfekcijo *in vivo*, metodo pa imenujemo elektrogenska terapija (11–14, 17, 39).

Elektrogensko transfekcijo lahko uporabimo tudi v pogojih *in vitro*, za vnos plazmidne DNA, različnih vrst RNA (mRNA, siRNA), proteinov ali sistema CRISPER/Cas9 (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*) v celice (38, 40). Tehnologijo CRISPER/Cas9, ki omogoča urejanje genoma, so preizkusili v kliničnih raziskavah za zdravljenje genetskih bolezni, raka, srčno-žilnih bolezni in fibroze jeter (40). Elektrogenska transfekcija je zanimiva tudi za celično terapijo s somatskimi celicami. Pri celični terapiji pripravimo modificirane celice *ex vivo* in jih pozneje uporabimo za zdravljenje (slika 2). Za imunoterapijo raka uporabljajo gensko modificirane celice CAR-T (*chimeric antigen receptor T-cell*) (3). Metodologijo priprave CAR-T še razvijajo in izboljšujejo, med metodami, s katerimi pripravljajo CAR-T, pa najdemo tudi elektroporacijo (41, 42). Čeprav je manj učinkovita od virusne transdukcije, pa je primerna za proizvodnjo večjih količin CAR-T v pretočnem sistemu, kar je velika prednost za industrijsko proizvodnjo (42).

Na področju celične terapije je elektroporacija zanimiva za pripravo celičnih cepiv, namenjenih imunoterapiji raka. Za celična cepiva največkrat uporabljajo dendritične celice, ki jih gensko modificirajo z različnimi metodami. Dendritične celice imajo pomembno vlogo v imunskem odzivu. Elektroporacijo lahko uporabimo tako za gensko modifikacijo dendritičnih celic (43) kot tudi za elektrofuzijo (9). Z zlivanjem dendritičnih in tumorskih celic bolnika pripravijo imunohidrome, ki združujejo imunostimulatorne lastnosti dendritične celice in celoten spekter antigenov tumorske celice (35, 44) in tako povečajo odziv imunskih celic, ki je ključen za uspešno imunoterapijo raka (35).

Elektroporacija je zanimiva tudi za pripravo induciranih pluripotentnih matičnih celic. Od revolucionarnega odkritja

leta 2006, ko so prvič opisali zmožnost dediferenciacije somatskih celic v pluripotentne matične celice, so te celice postale zanimive za celične in tkivne terapije. Ker so sposobne diferenciacije v celice treh zarodnih plasti, možnost njihove uporabe preizkušajo v različnih kliničnih raziskavah, predvsem na Japonskem in v Združenih državah Amerike (45). Večino pluripotentnih matičnih celic sicer pripravijo z virusno transdukcijo somatskih celic, elektroporacija pa je primerna za vnos episomalnih vektorjev, v primerih, ko se želimo izogniti uporabi virusnih vektorjev (4).

Tkivna terapija, ki temelji na uporabi modificiranih celic ali tkiv in je namenjena popravilu, regeneracij ali nadomestitvi človeških tkiv, predstavlja najmanjši delež vseh terapij z zdravili za napredno zdravljenje, ki so prišle do stopnje kliničnega preskušanja. Največ raziskav na tem področju je namenjenih zdravljenju mišično-skeletnih, srčno-žilnih bolezni in za regeneracijo kožno-vezivno-tkivnih poškodb (46). Tudi tkivno terapijo lahko izvajamo *ex vivo* ali *in situ*. Za tkivno terapijo *ex vivo* pripravijo tkivne opore, ki jih sestavljajo oporne strukture, celice in aktivne biomolekule. V nekaterih primerih izdelajo celično-tkivni konstrukt, ki ga uporabijo za implantacijo, in s tem omogočijo rekonstrukcijo poškodovanega tkiva. Za pristop *in situ* pa uporabljajo različne biokompatibilne materiale, ki pospešijo funkcionalno regeneracijo poškodovanega tkiva (47).

Poleg polimerov, keramičnih, kovinskih in kompozitnih biokompatibilnih materialov (47) raziskujejo tudi primernost tkivnih opor biološkega izvora, ki imajo za osnovo trodimenzionalno strukturo zunajceličnega ogrodja (48). Zunajcelično ogrodje omogoča strukturno oporo in predstavlja naravno mikrookolje za tkivne matične celice, zato ima pomembno vlogo v regeneraciji poškodovanega tkiva. Za pripravo podporne strukture iz zunajceličnega ogrodja je treba odstraniti celice, za kar se uveljavljajo različne metode odstranjevanja celic iz tkiva. Na tak način pridobijo bazično ogrodje (*decellularised extracellular matrix*, dECM), ki je primerno za pripravo tkivnih opor (48). Med fizikalne metode, ki jih uporabljajo za pripravo bazičnega ogrodja sodi tudi netermalna ireverzibilna elektroporacija tkiva (48). Parametre električnih pulzov izberejo tako, da presežejo prag ireverzibilne elektroporacije, kar povzroči celično smrt. Ireverzibilna permeabilizacija membrane omogoči, da se ohrani samo struktura zunajceličnega ogrodja. Poskusi na živalskih modelih so pokazali, da na tak način pridobijo primerno oporo za regeneracijo poškodovanega tkiva arterije (18). Ireverzibilna elektroporacija v kombinaciji z različnimi drugimi metodami odstranjevanja celic iz tkiva se je izkazala kot učinkovita metoda tudi pri zahtevnejših pripravah bazičnega ogrodja. Tak primer je priprava bazičnega



ogrodja iz tkiva z gosto, kompleksno strukturo in visoko vsebnostjo lipidov (49). Za izdelavo celično-tkivnega konstrukta tridimenzionalno ogrodje ponovno naselijo s primernimi celicami, ki so zmožne diferenciacije (50).

4 SKLEP

Za pripravo različnih vrst naprednih terapij je elektroporacija primerna nevirusna metoda, ko želimo vnašati genski material, utišati določene gene, reprogramirati somatske celice ali pripraviti celična cepiva. V vseh naštetih primerih je potrebno izbrati električne parametre in elektroporacijski medij, kar omogoči, da celice lažje preživijo. Za tkivno terapijo lahko uporabimo ireverzibilno elektroporacijo za pripravo biokompatibilnih tkivnih opor, z reverzibilno elektroporacijo pa pripravljamo celice, s katerimi ponovno naselimo tridimenzionalno strukturo. Poznavanje osnovnih mehanizmov elektroporacije omogoča prilagajanje metode različnim namenom uporabe.

5 IZJAVA

Nastanek preglednega članka je omogočilo financiranje projekta OP20.05187 RI-SI-EATRIS, ki sta ga sofinancirala Republika Slovenija, Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in inovacije in Evropska unija iz Evropskega sklada za regionalni razvoj.

6 LITERATURA

- Goula A, Gkioka V, Michalopoulos E, Katsimpoulas M, Noutsias M, Sarri EF, et al. *Advanced Therapy Medicinal Products Challenges and Perspectives in Regenerative Medicine*. *J Clin Med Res*. 2020;12(12):780–6.
- Silva DN, Chrobok M, Ahlén G, Blomberg P, Sällberg M, Pasetto A. *ATMP development and pre-GMP environment in academia: a safety net for early cell and gene therapy development and manufacturing*. *Immuno-Oncology and Technology*. 2022 Dec;16:100099.
- Sterner RC, Sterner RM. *CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies*. *Blood Cancer J*. 2021 Apr 6;11(4):69.
- Huang CY, Liu CL, Ting CY, Chiu YT, Cheng YC, Nicholson MW, et al. *Human iPSC banking: barriers and opportunities*. *J Biomed Sci*. 2019 Dec;26(1):87.
- Kotnik T, Rems L, Tarek M, Miklavčič D. *Membrane Electroporation and Electropermeabilization: Mechanisms and Models*. *Annu Rev Biophys*. 2019 May 6;48(1):63–91.
- Kanduser M, Kokalj Imsirovic M, Usaj M. *The Effect of Lipid Antioxidant α -Tocopherol on Cell Viability and Electrofusion Yield of B16-F1 Cells In Vitro*. *J Membr Biol*. 2019 Feb;252(1):105–14.
- Kandušar M, Miklavčič D. *Electroporation in Biological Cell and Tissue: An Overview*. In: *Electrotechnologies for Extraction from Food Plants and Biomaterials* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2009 [cited 2016 Nov 15]. p. 1–37. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-79374-0_1
- Pavlin M, Kanduser M. *New Insights into the Mechanisms of Gene Electrotransfer - Experimental and Theoretical Analysis*. *Sci Rep*. 2015 Mar 16;5:9132.
- Kandušar M, Ušaj M. *Cell electrofusion: past and future perspectives for antibody production and cancer cell vaccines*. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2014 Dec;11(12):1885–98.
- Muralidharan A, Boukany PE. *Electrotransfer for nucleic acid and protein delivery*. *Trends in Biotechnology*. 2024 Jun;42(6):780–98.
- Geboers B, Scheffer HJ, Graybill PM, Ruarus AH, Nieuwenhuizen S, Puijk RS, et al. *High-Voltage Electrical Pulses in Oncology: Irreversible Electroporation, Electrochemotherapy, Gene Electrotransfer, Electrofusion, and Electroimmunotherapy*. *Radiology*. 2020 May;295(2):254–72.
- Campana LG, Testori A, Curatolo P, Quaglino P, Mocellin S, Framarini M, et al. *Treatment efficacy with electrochemotherapy: A multi-institutional prospective observational study on 376 patients with superficial tumors*. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*. 2016 Dec;42(12):1914–23.
- Heller R, Heller LC. *Gene Electrotransfer Clinical Trials*. In: *Advances in Genetics* [Internet]. Elsevier; 2015 [cited 2018 Feb 19]. p. 235–62. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065266014000078>
- Cemazar M, Sersa G, Frey W, Miklavcic D, Teissie J. *Recommendations and requirements for reporting on applications of electric pulse delivery for electroporation of biological samples*. *Bioelectrochemistry*. 2018 Aug;122:69–76.
- Campana LG, Daud A, Lancellotti F, Arroyo JP, Davalos RV, Di Prata C, et al. *Pulsed Electric Fields in Oncology: A Snapshot of Current Clinical Practices and Research Directions from the 4th World Congress of Electroporation*. *Cancers*. 2023 Jun 25;15(13):3340.
- Edd JF, Horowitz L, Davalos RV, Mir LM, Rubinsky B. *In Vivo Results of a New Focal Tissue Ablation Technique: Irreversible Electroporation*. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 2006 Jul;53(7):1409–15.
- Davalos R, Rubinsky B. *Electrical Impedance Tomography of Cell Viability in Tissue With Application to Cryosurgery*. *Journal of Biomechanical Engineering*. 2004;126(2):305.
- Phillips M, Maor E, Rubinsky B. *Principles of Tissue Engineering With Nonthermal Irreversible Electroporation*. *Journal of Heat Transfer*. 2011 Jan 1;133(1):011004.
- Markov M. *Dosimetry in Bioelectromagnetics*. *Dosimetry in Bioelectromagnetics*.
- Cvetkoska A, Pirc E, Rebersek M, Magjarevic R, Miklavcic D. *Towards standardization of electroporation devices and protocols*. *IEEE Instrum Meas Mag*. 2020 Apr;23(2):74–81.

21. Pirc E, Reberšek M, Miklavčič D. Functional Requirements and Quality Assurance Necessary for Successful Incorporation of Electroporation-Based Therapies Into Clinical Practice. *Journal of Medical Devices*. 2020 Mar 1;14(1):014701.
22. Pakhomov AG, Miklavcic D, Markov MS. *Advanced Electroporation Techniques in Biology and Medicine* [Internet]. 0 ed. CRC Press; 2010 [cited 2024 Mar 5]. Available from: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781439819074>
23. Rems L, Viano M, Kasimova MA, Miklavcic D, Tarek M. The contribution of lipid peroxidation to membrane permeability in electroporation: A molecular dynamics study. *Bioelectrochemistry*. 2019 Feb;125:46–57.
24. Muralidharan A, Rems L, Kreutzer MT, Boukany PE. Actin networks regulate the cell membrane permeability during electroporation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 2021 Jan;1863(1):183468.
25. Pavlin M, Flisar K, Kandušer M. The Role of Electrophoresis in Gene Electrotransfer. *The Journal of Membrane Biology*. 2010 Jul 18;236(1):75–9.
26. Golzio M, Teissié J, Rols MP. Direct visualization at the single-cell level of electrically mediated gene delivery. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(3):1292–7.
27. Faurie C, Reberšek M, Golzio M, Kandušer M, Escoffre JM, Pavlin M, et al. Electro-mediated gene transfer and expression are controlled by the life-time of DNA/membrane complex formation. *The Journal of Gene Medicine*. 2010 Jan;12(1):117–25.
28. Reberšek M, Faurie C, Kandušer M, Čorović S, Teissié J, Rols MP, et al. Electroporator with automatic change of electric field direction improves gene electrotransfer in-vitro. *BioMedical Engineering OnLine*. 2007;6(1):25.
29. Kandušer M, Miklavčič D, Pavlin M. Mechanisms involved in gene electrotransfer using high- and low-voltage pulses — An in vitro study. *Bioelectrochemistry*. 2009 Feb;74(2):265–71.
30. Gong J, Koido S, Calderwood SK. Cell fusion: from hybridoma to dendritic cell-based vaccine. *Expert Review of Vaccines*. 2008 Sep;7(7):1055–68.
31. Zimmermann U. Electrical Breakdown, Electroporation and Electrofusion. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 1986;105:175–256.
32. Chernomordik LV, Kozlov MM. Mechanics of membrane fusion. *Nature Structural & Molecular Biology*. 2008 Jul;15(7):675–83.
33. Aycock KN, Davalos RV. Irreversible Electroporation: Background, Theory, and Review of Recent Developments in Clinical Oncology. *Bioelectricity*. 2019 Dec 1;1(4):214–34.
34. Sugrue A, Maor E, Ivorra A, Vaidya V, Witt C, Kapa S, et al. Irreversible electroporation for the treatment of cardiac arrhythmias. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*. 2018 May 4;16(5):349–60.
35. Hawlina S, Chowdhury HH, Smrkolj T, Zorec R. Dendritic cell-based vaccine prolongs survival and time to next therapy independently of the vaccine cell number. *Biol Direct*. 2022 Feb 23;17(1):5.
36. Hawlina S, Zorec R, Chowdhury HH. Potential of Personalized Dendritic Cell-Based Immunohybridoma Vaccines to Treat Prostate Cancer. *Life*. 2023 Jul 1;13(7):1498.
37. Arabi F, Mansouri V, Ahmadbeigi N. Gene therapy clinical trials, where do we go? An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022 Sep;153:113324.
38. Kohn DB, Chen YY, Spencer MJ. Successes and challenges in clinical gene therapy. *Gene Ther*. 2023 Nov;30(10–11):738–46.
39. Hadzialjevic B, Omerzel M, Trovsek B, Cemazar M, Jesenko T, Sersa G, et al. Electrochemotherapy combined with immunotherapy – a promising potential in the treatment of cancer. *Front Immunol*. 2024 Jan 15;14:1336866.
40. Li T, Yang Y, Qi H, Cui W, Zhang L, Fu X, et al. CRISPR/Cas9 therapeutics: progress and prospects. *Sig Transduct Target Ther*. 2023 Jan 16;8(1):36.
41. Zhang J, Hu Y, Yang J, Li W, Zhang M, Wang Q, et al. Non-viral, specifically targeted CAR-T cells achieve high safety and efficacy in B-NHL. *Nature*. 2022 Sep 8;609(7926):369–74.
42. Vanderburgh JA, Corso TN, Levy SL, Craighead HG. Scalable continuous-flow electroporation platform enabling T cell transfection for cellular therapy manufacturing. *Sci Rep*. 2023 Apr 26;13(1):6857.
43. Lin MJ, Svensson-Arvelund J, Lubitz GS, Marabelle A, Melero I, Brown BD, et al. Cancer vaccines: the next immunotherapy frontier. *Nat Cancer*. 2022 Aug 23;3(8):911–26.
44. Lu YT, Pendharkar GP, Lu CH, Chang CM, Liu CH. A microfluidic approach towards hybridoma generation for cancer immunotherapy. *Oncotarget*. 2015 Oct 7;6(36):38764–76.
45. Kim JY, Nam Y, Rim YA, Ju JH. Review of the Current Trends in Clinical Trials Involving Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Rev and Rep*. 2022 Jan;18(1):142–54.
46. Joyce K, Buljovic Z, Rosic G, Kaszkin-Bettag M, Pandit A. Issues with Tissues: Trends in Tissue-Engineered Products in Clinical Trials in the European Union. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2023 Feb 1;29(1):78–88.
47. Gaharwar AK, Singh I, Khademhosseini A. Engineered biomaterials for in situ tissue regeneration. *Nat Rev Mater*. 2020 Jul 6;5(9):686–705.
48. Crapo PM, Gilbert TW, Badyrak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011 Apr;32(12):3233–43.
49. Koo MA, Jeong H, Hong SH, Seon GM, Lee MH, Park JC. Preconditioning process for dermal tissue decellularization using electroporation with sonication. *Regenerative Biomaterials*. 2022 Apr 8;9:rbab071.
50. Saini A, Breen I, Alzubaidi S, Pershad Y, Sheth R, Naidu S, et al. Irreversible Electroporation in Liver Cancers and Whole Organ Engineering. *JCM*. 2018 Dec 25;8(1):22.



VREDNOTENJE PEPTIDA TETRAKOZAKTIDA V GALENSKIH IZDELKIH ZA IZVEDBO HITREGA TESTA ACTH

EVALUATION OF TETRACOSACTIDE PEPTIDE IN GALENIC FORMULATIONS FOR RAPID ACTH TEST

AVTORJA / AUTHORS:

Aleksandra Bračko, mag. farm., spec.¹
prof. dr. Janez Ilaš, mag. farm.²

¹ Univerzitetni klinični center Maribor,
Centralna lekarna,
Ljubljanska ulica 5, 2000 Maribor

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Katedra za farmacevtsko kemijo,
Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: aleksandra.bracko@ukc-mb.si

POVZETEK

Tetrakozaktid je sintezni analog človeku lastnega adrenokortikotropnega hormona (ACTH), ki spodbuja sproščanje kortizola iz skorje nadledvične žleze. Na voljo imamo več funkcijskih testov za oceno delovanja skorje nadledvične žleze: hitri in večdnevni test ACTH, inzulinski tolerančni test, metiraponski test in deksametazonske teste. Pri hitrem testu ACTH z injiciranjem tetrakozaktida sprožimo izločanje kortizola iz nadledvičnih žlez. Tako pridobljeno raven kortizola primerjamo s tisto pred testom – bazalni ACTH. Če koncentracija kortizola 30 do 60 minut po aplikaciji ne naraste, je skorja nadledvičnih žlez atrofična. V slovenskih bolnišnicah in ambulantah največkrat pripravljamo raztopino tetrakozaktida s koncentracijo 5 µg/mL v steklenih vialah. V Centralni lekarni Univerzitetnega kliničnega centra Maribor (UKC Maribor) že od leta 2016 za potrebe oddelkov polnimo raztopino tetrakozaktida v brizge. Redčenje industrijskega zdravila s fiziološko raztopino opravimo po aseptičnem postopku. Za izvedbo hitrega testa ACTH zadostuje obremenitev preiskovanca z 1 µg tetrakozaktida. V članku opisujemo farmakopejsko metodo za vrednotenje tetrakozaktida ter uporabo najsodobnejših analiznih metod, ki bi jih lahko uporabili za vrednotenje končnih pripravkov tetrakozaktida.

KLJUČNE BESEDE:

identifikacija nečistot, kortizol, test ACTH, tetrakozaktid, vsebnik

ABSTRACT

Tetracosactide is a synthetic analog of the human adrenocorticotrophic hormone (ACTH) that stimulates the release of cortisol from the adrenal cortex. There are several functional tests available to assess the adrenal cortex function: rapid and multi-day ACTH tests, insulin tolerance test, metyrapone test and dexamethasone tests. In the rapid ACTH test, cortisol secretion from the adrenal glands is stimulated by injecting tetracosactide. The resulting cortisol level is compared to the baseline ACTH level before the test. If the cortisol level does not increase 30–60 minutes after the application, it indicates adrenal cortical atrophy. In Slovenian hospitals and outpatient clinics, tetracosactide solution with a concentration of 5 µg/mL is most often prepared in a glass vial. In

2016, the Central Pharmacy of the University Medical Centre Maribor started with the aseptic preparation of tetracosactide solution filled in syringes at the request of hospital departments. The industrial drug was diluted in sodium chloride solution under aseptic conditions. To perform a rapid ACTH test, it is sufficient to load the patient with 1 µg of tetracosactide. The article describes a pharmacopoeial method for the evaluation of tetracosactide and the use of state-of-the-art analytical methods that could be used to evaluate tetracosactide final preparations.

KEY WORDS:

ACTH test, container, cortisol, impurity identification, tetracosactide

1 UVOD

1.1 ENDOKRINI SISTEM

Človeški organizem je sestavljen iz številnih celic, za katere je pomembno, da imajo vzpostavljen dober mehanizem medceličnega komuniciranja. Za usklajeno delovanje medceličnih interakcij sta se razvila dva sistema. Prvi je živčni sistem, pri katerem se signali prenašajo po živcih, drugi pa je endokrini sistem, pri katerem so prenašalci signalov hormoni. Hipotalamus in hipofiza tvorita funkcionalno enoto, ki povezuje živčni in endokrini sistem (1).

Endokrini sistem sestavljajo endokrine žleze (žleze z notranjim izločanjem) in endokrine celice, ki so razpršene po različnih tkivih. Z izločanjem hormonov sistem poskrbi za normalno rast, razvoj, razmnoževanje, prilagajanje na stres in presnovno aktivnost organizma (2). Glavni organi endokrinega sistema so hipotalamus, hipofiza, češerika, ščitnica in obščitnice, nadledvični žlezi, Langerhansovi otočki trebušne slinavke, jajčnika in moda. Hipofizo imenujemo tudi nadrejena žleza, saj je odgovorna za pravilno delovanje mnogih drugih endokrinih žlez (1).

1.2 ADRENOKORTIKOTROPNI HORMON IN KORTIZOL

Kortizol je kortikosteroidni hormon, ki spada med t. i. stresne hormone. Izločanje kortizola iz skorje nadledvične žleze sproži adrenokortikotropni hormon (ACTH), ki ga v stresnih

situacijah sprošča hipotalamus. Izhodna spojina za sintezo kortizola je holesterol, ki se v več encimsko kataliziranih stopnjah pretvori v kortizol. Prosta oblika kortizola zaradi svoje lipofilnosti zlahka prehaja celično membrano in tako vstopi v tarčno celico. Tam se veže na glukokortikoidne receptorje in nastanejo kompleksi hormon-receptor. Slednji se prenesejo v jedro in sprožijo sintezo ustreznih proteinov. Nastali proteini so posledica hormonskega odziva telesa na različne fiziološke (presnovni, protivnetni in imunosupresivni učinki) in patofiziološke procese. Opisana pot regulacije je pomembna za ohranjanje homeostaze ob stresu (3, 4).

Kortizol je sposoben regulirati tudi lastno izločanje, in sicer preko zaviranja hipotalamo-hipofizno-nadledvične stresne osi (negativna povratna zanka). Ob izpostavljenosti stresu se zviša koncentracija kortizola v krvi. Pri akutnem stresu ima kortizol pozitivne kratkotrajne učinke, kot sta pospešitev katabolnih procesov in dvig ravni energije, ki je potrebna za vzdrževanje homeostaze. Kronični stres privede do stalne stimulacije hipotalamo-hipofizno-nadledvične osi in konstantno zvišane koncentracije kortizola. Ta dogodek povzroči poškodbe nevronov hipokampusu in nepravilno delovanje te osi. Kronični stres je lahko dejavnik v razvoju psihičnih in psihosomatskih motenj oz. bolezni (3, 4).

1.3 MOTNJE V DELOVANJU NADLEDVIČNIH ŽLEZ

1.3.1 Cushingov sindrom

Cushingov sindrom je patološko stanje, ki nastane kot posledica kronične izpostavljenosti velikim količinam glukokortikoidov v krvi. Pri zdravem človeku je nivo kortizola zjutraj najvišji in zvečer najnižji. Povišana vrednost kortizola, ki ostane enakomerno visoka ves dan in ne pade v večernih urah, lahko kaže na Cushingov sindrom (2).

Najpogostejši razlog za nastanek bolezni je dlje časa trajajoče zdravljenje z glukokortikoidi (iatrogeni Cushingov sindrom), redkeje pa se pojavi spontano (neiatrogeni Cushingov sindrom). Klinični znaki so posledica številnih metabolnih manifestacij čezmernega izločanja glukokortikoidov. Značilna je centralna porazdelitev maščevja, kar se kaže v obliki okroglega luninega obraza, »bivoljega vratu« na zatilju in z zapolnjenostjo nadključničnih kotanj. Roke in noge so zaradi mišične atrofije, ki je posledica katabolnega delovanja glukokortikoidov, tanke in oslabiljene. Hkrati se pojavijo težave s povišanim krvnim tlakom, motnje v presnovi ogljikovih hidratov, mišična slabost, kožne podplutbe, akne in rdečica obraza, osteoporoza, izguba libida in potence pri moških ter motnje menstrualnega ciklusa pri žen-



skah. Najpogostejša oblika zdravljenja je kirurška odstranitev hipofiznega tumorja, ki izloča ACTH ali kortizol (2, 5).

1.3.2 Primarna odpoved skorje nadledvičnih žlez ali Addisonova bolezen

Bolniki z Addisonovo boleznijo tožijo o utrujenosti (stopnjevanje tekom dneva), izgubi apetita in hujšanju zaradi bolečin v trebuhu, bruhanju in driski. Med zunanjimi znaki opazimo poudarjeno pigmentacijo kože in sluznic ter slabšo sekundarno poraščenost pri ženskah. Bolniki lahko imajo že leta nizek krvni tlak, predvsem sistolični tlak v pokončnem položaju. Prav tako so pogosteje izpostavljeni avtoimunskim boleznim. Akutno poslabšanje Addisonove bolezni imenujemo addisonska kriza. Sproži jo lahko okužba ali druga vrsta stresa. Bolniki z Addisonovo boleznijo imajo v serumu povišane koncentracije sečnine in kalija ter znižane koncentracije natrija. Zvišana sečnina in kalij sta posledica znižane glomerulne filtracije ob pomanjkanju glukokortikoidov, medtem ko pomanjkanje mineralokortikoidov privede do hiponatriemije in potencira hiperkaliemijo. Praviloma pride pri bolnikih še do blage normocitne normokromne anemije (2).

Pri bolniku z Addisonovo boleznijo kortizol po izvedbi hitrega testa ACTH ne poraste oz. poraste minimalno (5).

1.4 FUNKCIJSKI TESTI ZA OCENO DELOVANJA SKORJE NADLEDVIČNE ŽLEZE

S hormonskimi preiskavami določijo bazalno, suprimirano (z 8 mg deksametazona) ter stimulirano koncentracijo ACTH in kortizola v plazmi (preglednica 1).

Znižano oz. neustrezno koncentracijo serumskega kortizola dokažemo s hormonskim testom ACTH. Hitri test ACTH nam poda odgovor, ali je insuficienca nadledvične žleze prisotna ali ne, ne ločuje pa med primarno in sekundarno odpovedjo (posledica zmanjšane izločanja ACTH). Za to razlikovanje je treba izvesti večdnevni test ACTH (preglednica 1). Pri tem testu bolniku tri dni zapored apliciramo tetrakozaktid in preverjamo raven kortizola. Pri sekundarni

insuficienci skorje nadledvične žleze serumska koncentracija kortizola drugi ali tretji dan naraste, pri primarni insuficienci pa ostaja raven kortizola ves čas nespremenjena (popolna odpoved delovanja nadledvične žleze). Z dokončnim izčrpanjem nadledvične žleze lahko sprožimo addisonsko krizo. Pri odpovedi skorje nadledvične žleze je treba nadomeščati manjkajoči kortizol in po potrebi še mineralokortikoide. Najpogosteje pri tem uporabljamo hidrokortizon in fludrokortizon. Kakovost in pričakovana življenjska doba takšnega bolnika, ki redno prejema nadomestno zdravljenje in je poučen, kako ukrepati v stresnih situacijah, se ne razlikuje bistveno kot pri zdravem človeku (2).

2 TETRAKOZAKTID IN NJEGOVE NEČISTOTE

Tetrakozaktid je sintezni analog človeku lastnega ACTH. Oba stimulirata sproščanje kortizola iz skorje nadledvične žleze. Zgrajen je iz prvih 24 od 39 aminokislin telesu lastnega ACTH (slika 1). Tetrakozaktid ima osem bazičnih aminokislin in izoelektrično točko pri vrednosti 10,5, kar pomeni, da ima peptid v kislem mediju pozitiven naboj (5, 8).

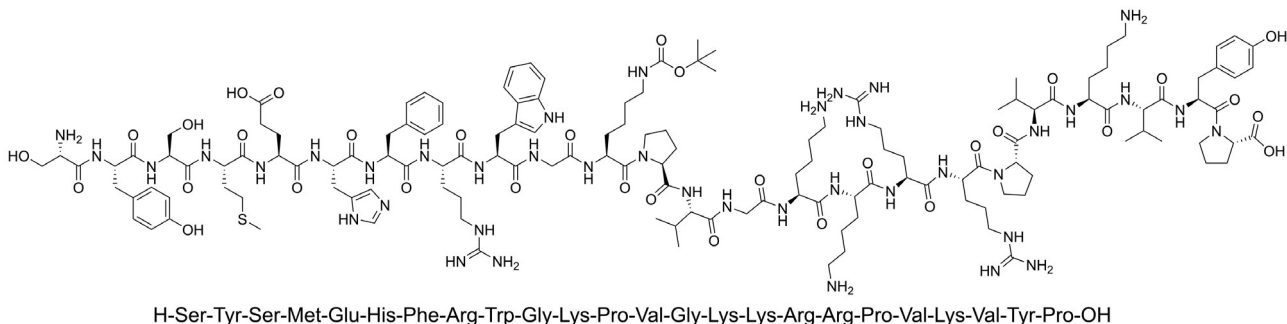
2.1 PRIPRAVA RAZTOPINE TETRAKOZAKTIDA V CENTRALNI LEKARNI UNIVERZITETNEGA KLINIČNEGA CENTRA MARIBOR TER UPORABA PRI PACIENTIH NA ODDELKIH

V Centralni lekarni UKC Maribor pripravljamo raztopino tetrakozaktida s koncentracijo 5 µg/mL v steklene vial. Redčenje industrijskega zdravila s tetrakozaktidom s fiziološko raztopino opravljamo po aseptičnem postopku. Raztopino nato glede na potrebe oddelkov polnimo v sterilne brizge, ki so kot takšne na voljo za takojšnjo aplikacijo. Tako vialo kot brizgo shranjujemo v hladilniku in na temnem. Na bol-

Preglednica 1: Funkcijski testi za oceno delovanja skorje nadledvične žleze (2).

Table 1: Adrenal function tests to evaluate the function of adrenal glands (2).

STIMULACIJSKI TESTI	SUPRESIJSKI TESTI
<ul style="list-style-type: none"> • Hitri test ACTH • Večdnevni test ACTH • Inzulinski tolerančni test • Metiraponski test 	<ul style="list-style-type: none"> • Test z majhnim odmerkom deksametazona (1 mg) • Dvodnevni test z majhnim odmerkom deksametazona (2 mg) • Test z velikim odmerkom deksametazona (skupaj 8 mg)



Slika 1: Strukturna formula in aminokislinsko zaporedje tetrakozaktida.
Figure 1: Chemical structure and amino acid sequence of tetracosactide.

nišničnih oddelkih za izvedbo posameznega testa aplicirajo preiskovancu 1 µg tetrakozaktida.

V želji po izvedbi kontrole kakovosti prednapoljenih brizg smo iskali primerno rutinsko analizno metodo. Analiza s fluorometrom Qubit 4 in Bradfordova metoda sta se izkazali za premalo občutljivi, analiza s tekočinsko kromatografijo ultra visoke zmogljivosti, sklopljena z masno spektrometrijo visoke ločljivosti (UHPLC-HRMS), pa je bila dovolj občutljiva, a predvsem zaradi svoje cenovne vrednosti oz. nedostopnosti ne spada med rutinske metode.

2.2 METODE ZA UGOTAVLJANJE KONCENTRACIJE TETRAKOZAKTIDA IN NJEGOVIH NEČISTOT

Tetrakozaktid je po strukturi velik in kompleksen peptid, zato so za analizo potrebne dovolj občutljive metode, ki omogočijo ločitev in identifikacijo molekul tetrakozaktida in nečistot z različnimi naboji, primerjavo vzorcev tetrakozaktida, shranjenih v različnih vsebnikih in pri različnih pogojih, ter spremljanje razgradnje tetrakozaktida in identifikacijo nastalih nečistot.

V Evropski farmakopeji ima peptid svojo monografijo. S tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC) so v referenčni raztopini tetrakozaktida zaznali prisotnost zgolj dveh nečistot. Do nastanka nečistote A pride na položaju 4, kjer se aminokislina metionin oksidira do sulfoksida. Druga nečistota B je najverjetneje diastereoizomer, ki se na mestu 16 pretvori iz *L*- v *D*-Lys-tetrakozaktid. Evropska farmakopeja predpisuje analizo s kolono, ki temelji na stacionarni fazi C18, dolžine 15 cm in premera 4,6 mm, pri pretoku 0,8 mL/min in pri 25 °C. Ločba je gradientna, v mobilnih

fazah A in B so v različnih deležih očetna kislina, acetonitril in amonijev sulfat, v mobilni fazi C pa samo acetonitril (6). Taichrib s sod. so s pomočjo analiznih metod reverznofazne tekočinske kromatografije visoke ločljivosti, sklopljene z masno spektrometrijo (RP-HPLC-MS), ter kapilarne elektroforeze, sklopljene z masnim detektorjem z analizatorjem na čas preleta ionov (CE-QTOF-MS), odkrili kar 41 nečistot tetrakozaktida. Primerjali so vsebnost nečistot pri različnih vzorcih (tri različne serije tetrakozaktida, pridobljene pri BfArM, en vzorec tetrakozaktida proizvajalca Bachem in en vzorec zdravila Synacthen®). Vzorce so tik pred analizo redčili do koncentracije 1,0 oz. 0,5 mg/mL z ultra čisto vodo. Kot je razvidno v preglednici 2, največji relativni delež nečistot poleg tetrakozaktid sulfoksida in *D*-Lys¹⁶-tetrakozaktida (diastereomer) predstavljajo še acetiliran tetrakozaktid (acetatna skupina stabilizira učinkovino) ter tetrakozaktid z zaščitnima skupinama *tert*-butil in *tert*-butiloksikarbonil. Nečistote z zaščitnimi skupinami so stranski produkti, ki nastajajo pri sintezi učinkovine. Majhen relativni delež predstavljata nečistoti tetrakozaktid + YSM in tetrakozaktid + SYSM, katerih masa je večja ravno za velikost aminokislinske sekvence, za 381 (YSM) oz. 468 (SYMS) Da. Nečistota 10-24 tetrakozaktid + G je zgrajena iz aminokislin od mesta 10. do 24. v molekuli tetrakozaktida z dodano aminokislinsko sekvenco G (7).

Industrijsko izdelano zdravilo Synacthen® je imelo podoben nabor in relativni delež nečistot kot ostali vzorci (BfArM, Bachem). Relativni deleži nečistot v industrijskem zdravilu pa so se precej razlikovali med metodama LC (tekočinska kromatografija) in CE (kapilarna elektroforeza). Strokovnjaki v članku so menili, da je razlog v nizki koncentraciji tetrakozaktida v Synacthen®, ki je znašala 250 µg/mL in da je za natančnejšo analizo vsebnosti nečistot potrebna višja koncentracija vzorcev (7).



Nadalje so ugotovili, da so z metodo CE učinkoviteje ločili nečistote z nižjo molekulsko maso in z metodo LC nečistote z višjo molekulsko maso. Za celotno analizo nečistot tetrakozaktida je bila potrebna kombinacija obeh metod (7). Tudi v doktorski disertaciji (8) so z analiznima metodama conske kapilarne elektroforeze, sklopljene z UV-spektrometrom, (CZE-UV) in conske kapilarne elektroforeze, sklopljene z masnim spektrometrom (CZE-MS), identificirali podoben nabor nečistot kot z zgoraj omenjenimi metodami. Poleg tetrakozaktida so detektirali še 16 razpadnih produktov, med drugim *D*-Lys-16-tetrakozaktid, tetrakozaktidov sulfoksid in stranske produkte sinteze tetrakozaktida. Žal podrobnejših informacij o vzorcu in analizi v nalogi niso razkrili.

3 VPLIV VSEBNIKA NA STABILNOST RAZTOPINE TETRAKOZAKTIDA

V strokovni literaturi najdemo različne podatke o vplivu vsebnika na stabilnost tetrakozaktida. Dickstein in sod. v članku (9) navajajo, da je raztopina tetrakozaktida v fiziološki raztopini, shranjena 2 uri pri 4 °C v steklenem vsebniku, stabilna le pri koncentraciji 5 µg/mL ali več. Nasprotno pa je raztopina, shranjena 2 uri pri 4 °C v plastičnem vsebniku, stabilna že pri koncentraciji 0,5 µg/mL. Raztopina s koncentracijo 5 µg/mL pa ostaja stabilna vsaj štiri mesece v obeh vrstah vsebnikov, saj koncentracija peptida do te ča-

Preglednica 2: Primerjava relativnih deležev AUC nečistot v različnih vzorcih tetrakozaktida (7).

Table 2: Comparison of relative proportions of AUC impurities in different samples of tetracosactide (7).

		BfArM – serija 1		BfArM - serija 2		BfArM – serija 3		SYNACTHEN®		Bachem	
Peptid	Masa ^a [Da]	Površina%									
		LC	CE	LC	CE	LC	CE	LC	CE	LC	CE
TCS	2931,5806	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>D</i> -Lys-TCS	2931,5806	5,02	6,00	3,37	4,58	3,39	5,29	3,46	0,95	–	0,62
TCS + YSM	3312,7165	0,76	0,75	0,96	0,84	1,00	1,45	0,62	0,26	–	–
TCS + SYSM	3399,7485	1,14	1,10	1,52	1,31	1,45	2,23	1,04	0,35	–	–
Ac-TCS	2973,5912	1,56	1,82	1,08	1,28	1,76	3,13	0,54	0,25	–	–
<i>t</i> Bu-TCS	2987,6432	14,59	20,51	14,82	19,16	14,24	26,13	11,02	6,36	0,29	–
<i>t</i> Boc-TCS	3031,6331	2,93	5,20	2,89	4,18	2,84	6,94	1,87	0,79	0,01	–
10–24 TCS+G	1765,0839	0,38	0,69	0,46	0,87	0,38	0,71	0,02	0,02	<0,01	–
TCS sulfoksid	2947,5756	0,83	5,72	1,48	2,88	0,80	4,33	1,58	10,28	5,06	6,60
Σ TCS ostalih nečistot		3,60	8,84	4,38	8,79	3,20	9,03	6,03	3,90	0,26	0,56

Legenda: a – izračunana monoizotopska masa; *t*Bu-TCS – *terc*-butil tetrakozaktid; *t*Boc-TCS *terc*-butiloksikarbonil; Σ TCS ostalih nečistot – vsota nečistot tetrakozaktida, ki imajo skrajšano verigo na *N*- ali *C*-terminalnem delu peptida in predstavljajo majhen relativni delež; površina % – površina posameznih vrhov glede na površino vrha tetrakozaktida (relativni delež)

sovne točke pada počasi. V plastičnem vsebniku pade koncentracija tetrakozaktida za 25 %, v steklenem pa za 30 %. Strokovnjaki so opravili tudi testiranje *in vivo* na podganah in preverjali biološko aktivnost vzorcev. Dokazali so, da je učinek štiri mesece starih raztopin s koncentracijami od 0,5 do 5 µg/mL popolnoma enak učinku sveže pripravljene raztopine, saj so v enaki meri povzročile porast kortizola (9).

Murphy s sod. v svojem članku (10) trdi nasprotno. Po njihovih predvidevanjih je test ACTH v nizkih odmerkih izredno občutljiv na morebiten padec koncentracije tetrakozaktida v pripravljenih raztopinah. Pri prostovoljcih so izvedli hitri test ACTH z 1 µg testne raztopine, ki so jo preiskovancem aplicirali na različne načine. Ugotovili so, da je padec peptida v testni raztopini povezan z vrsto pripomočka, ki so ga uporabili za aplikacijo raztopine preiskovancu. Po njihovem mnenju naj bi se tetrakozaktid ob izpostavljenosti plastiki adsorbiral na njeno površino. V primeru aplikacije skozi 30 cm dolg venski set je znašala koncentracija v testni raztopini manj kot 30 % od pričakovane koncentracije.

4 REZULTATI PRELIMINARNIH POSKUSOV Z METODO TEKOČINSKE KROMATOGRAFIJE ULTRA VISOKE ZMOGLJIVOSTI, SKLOPLJENE Z MASNO SPEKTROMETRIJO VISOKE LOČLJIVOSTI

Z uporabo metode UHPLC-HRMS smo v vzorcu tetrakozaktida, pripravljenem v Centralni lekarni UKC Maribor, ločili in identificirali peptid in prisotne nečistote ter primerjali vzorce, shranjene v steklenih in plastičnih vsebnikih in pri različnih pogojih (hladilnik in tema, sobna temperatura in svetloba). Vzorce smo pripravili z redčenjem tetrakozaktida (v obliki zdravila Synacthen 0,25 mg/mL, Alfasigma) s fiziološko raztopino do končne koncentracije 5 µg/mL. Kromatografsko analizo smo izvedli s kolono Acquity UPLC BEH C18, pri pretoku 0,4 mL/min in pri 40 °C. Kromatografski vrh za tetrakozaktid smo pričakovali pri 8,5 minute. Izvedli smo gradientno UHPLC s spreminjanjem elucijske moči mobilne faze. V mobilni fazi A je bila 0,1-odstotna raztopina mravljične kisline, v mobilni fazi B pa acetonitril.

Glavna prednost masnega spektrometra visoke ločljivosti je zmožnost identifikacije analita preko bruto formule in posledično identifikacija posameznih komponent oz. nečistot. Najvišjemu izotopu vsakega signala smo ob upoštevanju naboja molekule in ionizacije zaradi protoniranja (+ H⁺) izračunali molekulsko maso in podali bruto formulo molekule (slika 2 zgoraj).

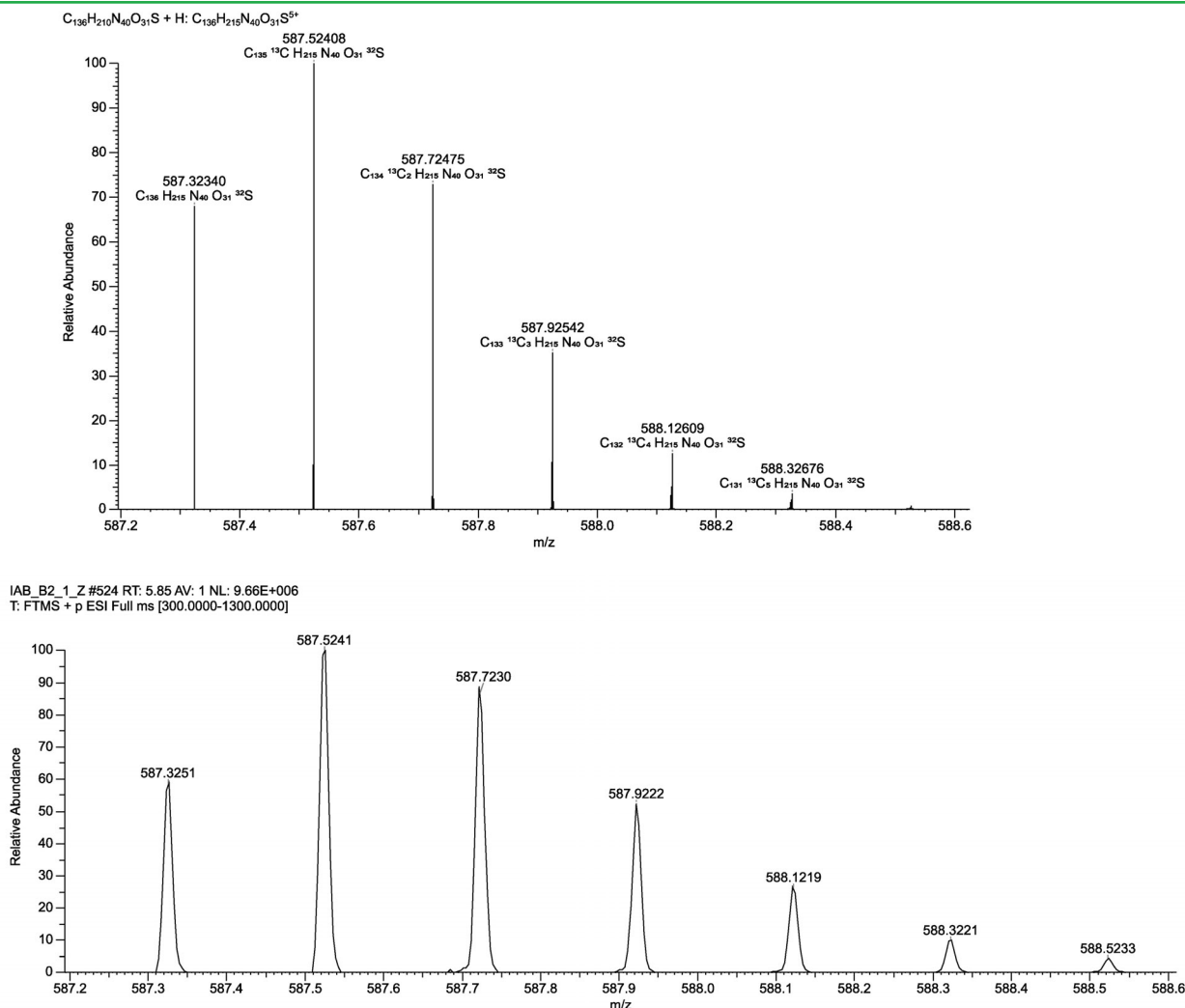
S pomočjo preliminarnega testa (direktno injiciranje) smo določili enajst nečistot z maso, ki je večja ali manjša od molekulske mase tetrakozaktida za +16 Da, +32 Da, +48 Da, +53 Da, +54 Da, +64 Da, -16 Da, -43 Da, -202 Da, -234 Da in -250 Da. Molekula peptida ima v svoji strukturi osem bazičnih centrov, tako da lahko imajo tetrakozaktid in vsaka nečistota v kislem mediju še različen naboj, in sicer naboj +3, +4, +5, +6, +7 in +8, kar vodi do kompleksne sestave ustreznih signalov m/z. Upoštevajoč vse pripadajoče signale smo z dekonvolucijo izračunali molekulsko maso in bruto formulo ter tako identificirali učinkovino tetrakozaktid ali eno od nečistot.

Z namenom preverjanja zmožnosti analizne opreme smo vzorec s koncentracijo 5 µg/mL v plastični brizgi izpostavili sobni temperaturi in svetlobi za en mesec ter ga neposredno analizirali z metodo UHPLC-HRMS. Na sliki 3 vidimo skupek signalov (izotopska sestava) z nabojem +5 za tetrakozaktid (C₁₃₆H₂₁₀N₄₀O₃₁S) (najbolj intenzivna vrednost m/z = 587,524). Pri vrednosti m/z = 590,722 je viden močan signal za nečistoto tetrakozaktidov sulfoksid (C₁₃₆H₂₁₀N₄₀O₃₂S), pri vrednosti m/z = 593,921 je viden signal za dioksidirano nečistoto (C₁₃₆H₂₁₀N₄₀O₃₃S) in pri vrednosti m/z = 597,120 je viden šibek signal za trioksidirano nečistoto tetrakozaktida z nabojem +5 (C₁₃₆H₂₁₀N₄₀O₃₄S). Glavni del predstavljajo nečistote, ki nastanejo z oksidacijo molekule (mono-, di-, tri-, tetraoksidirana oblika nečistote).

S tem smo uspešno potrdili, da je metoda UHPLC-HRMS sposobna ločevati zelo podobne nečistote in hkrati tudi sposobna zaznati spremembe v sestavi razredčene raztopine tetrakozaktida. Naši rezultati bi lahko služili za razvoj in validacijo ustrezne analizne metode. Glavni zadržek je dostopnost aparature UHPLC-HRMS, ki zaradi svoje vrednosti in zahtevnosti ni primerna za rutinsko uporabo, in ni upravičeno pričakovati, da bi jo v doglednem času v kontrolnem laboratoriju Centralne lekarne UKC Maribor tudi pridobili.

Farmakopejska metoda, ki predpisuje analizo z aparaturo HPLC, je namenjena analizi čiste substance iz katere se pripravi vodna raztopina s koncentracijo 1 mg/mL. Metoda je zagotovo dostopnejša in primernejša za rutinsko analizo, a je za naše potrebe premalo občutljiva in selektivna. Te-





Slika 2: Izračunan (napovedan) masni signal (m/z) za petkrat nabito molekulo tetrazozaktida ($C_{136}H_{215}N_{40}O_{31}S^{5+}$) (zgoraj) in izmerjene eksperimentalne vrednosti vzorca (spodaj).

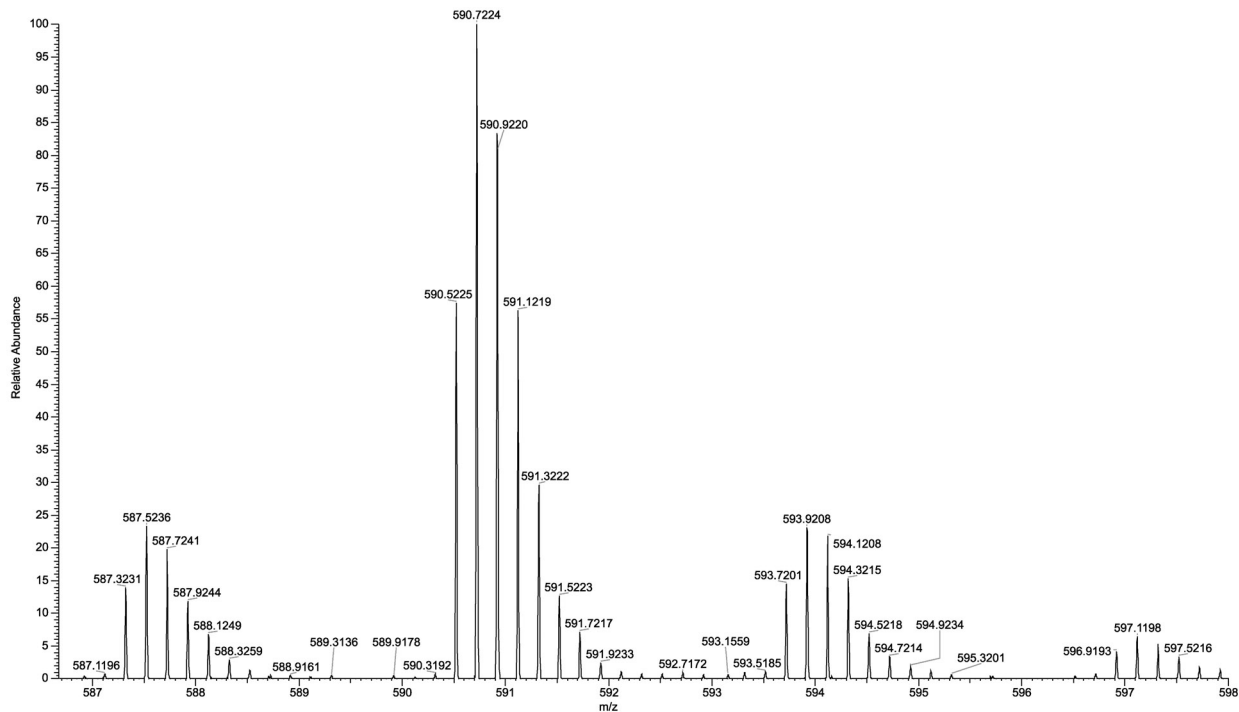
Figure 2: Calculated (predicted) mass signal (m/z) for the 5-fold charged molecule of tetracosactide ($C_{136}H_{215}N_{40}O_{31}S^{5+}$) (top) and measured experimental values of sample (bottom).

trakozaktida v testni raztopini s koncentracijo 5 $\mu\text{g/mL}$ namreč z uporabo farmakopejske metode pri našem delu ni smo zaznali.

5 SKLEP

Z izvedbo testa ACTH lahko na hiter in relativno enostaven način ugotovimo, ali je delovanje naših nadledvičnih žlez

pravilno ali ne. Zadostuje že obremenitev pacienta z 1 μg tetrazozaktida. V bolnišnicah najpogosteje uporabljamo že pripravljeno raztopino, katere stabilnost pa je odvisna od vrste vsebnika in pogojev shranjevanja. Glede na dobljene rezultate bi priporočali, da se raztopina tetrazozaktida kot polizdelek shranjuje v steklenem vsebniku, iz katerega jo nato tik pred aplikacijo ali na zalogo napolnimo v plastični vsebnik, kot so npr. prednapolnjene brizge. Raztopino moramo shranjevati v hladilniku in zaščiteno pred svetlobo. V UKC Maribor shranjujemo raztopino tetrazozaktida s koncentracijo 5 $\mu\text{g/mL}$ v stekleni viali 4 mesece in v plastični brizgi 2 meseca.



Slika 3: Tetrakozaktid in nečistote z nabojem +5 vzorca shranjenega en mesec v plastičnem vsebniku na sobni temperaturi in svetlobi, posnet z metodo HRMS.

Figure 3: Tetracosactide and its impurities with a charge +5 of the sample in a plastic container stored one month at room temperature and exposed to light analysed with HRMS.

6 LITERATURA

1. Osredkar J. Izbrana poglavja iz klinične kemije. Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2008: 16, 18, 86, 19-25, 42-46
2. Kocijančič A., Mrevlje F. Interna medicina. Državna založba Slovenije, Ljubljana 2005: 850-859
3. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 2006 Dec;8(4):383-95
4. Do YupL., Eosu K., Man Ho C. Technical and clinical aspect of cortisol as a biochemical marker of chronic stress. *BMB Reports*, 2015; 45(4):209-206
5. Kocjančič A. Endokrinologija. Državna založba Slovenije, Ljubljana, 1987: 6, 23-40, 205, 206, 319-324
6. Council Of Europe, European Pharmacopoeia Commission, European Directorate For The Quality Of Medicines & Healthcare. European pharmacopoeia. Strasbourg: Council Of Europe; 2019.
7. Taichrib A, Gerhard, Neusüß C. Identification and characterization of impurities of tetracosactide by capillary electrophoresis and liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry/Analytical & bioanalytical chemistry*. 2011 Jul 6;401(4):1365-75.
8. Ludwig DiplP. Elektromigrationsverfahren in der Peptidanalytik Trennung von diastereomeren Peptiden mittels Kapillarelektrochromatographie und Entwicklung eines kapillarelektrophoretischen Enzym-Assays für Sirtuine [Internet]. [cited 2024 May 21]. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/224755898.pdf>
9. Dickstein G, Shechner C, Nicholson We, Rosner I, Sheen-orr Z, Adawi F, et al. Adrenocorticotropin Stimulation Test: Effects of Basal Cortisol Level, Time of Day, and Suggested New Sensitive Low Dose Test*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1991 Apr;72(4):773-8.
10. Murphy H, Livesey J, Espiner EA, Donald RA. The Low Dose ACTH Test—A Further Word of Caution. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism/Journal of clinical endocrinology & metabolism* [Internet]. 1998 Feb 1 [cited 2024 May 20];83(2):712-3. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article/83/2/712/2865740>
11. Mandal A. What is Addison's Disease? [Internet]. News-Medical.net. 2018. Available from: <https://www.news-medical.net/health/What-is-Addisons-Disease.aspx>
12. Mayo Clinic. Cushing syndrome - symptoms and causes [Internet]. Mayo Clinic. Mayo Clinic; 2023. Available from: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/cushing-syndrome/symptoms-causes/syc-20351310>

DRUŠTVENE VESTI

ACTIVITIES FROM THE SOCIETY

SIMPOZIJ OB 49. SKUPŠČINI SFD IN PODELITEV DRUŠTVENIH PRIZNANJ 2024

Andrijana Tivadar

V poletni številki Farmacevskega vestnika se radi pohvalimo s poročilom o uspešno izvedenem simpoziju, ki ga tradicionalno organizira Slovensko farmacevtsko društvo v mesecu maju. Letos je potekal od 16. do 18. maja 2024 v Kongresnem centru Bernardin. Tudi tokrat smo v rubriki Društvene novice pripravili poročilo o simpoziju in podelitvi društvenih priznanj.

Slovensko farmacevtsko društvo je najmočnejša vez med posameznimi segmenti slovenske farmacije, preko katere se strokovnjaki iz industrije, lekarn, izobraževalnih ustanov in administracije povezujejo med seboj, se v okviru društva dodatno strokovno izpopolnjujejo, družijo, vzpodbujajo ... Na našo povezanost, ki je velika prednost in dragocenost, je treba večkrat opozoriti in biti ponosen. Še dolgo si želimo tudi živeti slogan, ki je nastal v času pandemije koronavirusa: »OSTANIMO POVEZANI!« Za sporočilo za javnost, ki smo ga napisali ob letošnji podelitvi društvenih priznanj, smo izbrali pravi naslov: **Člani Slovenskega farmacevskega društva enotni, strokovni in solidarni!** Tako je bilo čutiti vse tri dni, ko smo bili na tradicionalnem simpoziju ob 49. skupščini SFD.

Program simpozija ob 49. skupščini SFD smo pripravili s pomočjo dobro uigrane ekipe organizacijskega odbora pod vodstvom prof. dr. Tomaža Vovka. Z idejami in predlogi ter nekateri tudi z aktivnim prispevkom v vlogi moderatorjev na simpoziju so se izkazali: Alenka Rutar Pariš, Aleš Brumen, Borut Štrukelj, Gašper Marc, Janez Toni, Matjaž Tuš, Mojca Prah Klemenčič in Vladka Češek Bizjak. Udeleženci in sponzorji so nas razveselili z rekordno udeležbo. Veseli smo bili tudi izpolnjenih anket, ki smo jih pričakovali več, a tudi na podlagi teh skoraj 60 izpolnjenih vprašalnikov lahko v prihodnjih letih še kaj izboljšamo.

Program simpozija smo zastavili tako, da smo lahko udeležencem ponudili različne vsebine, od predstavitve bolj znanstvenih dosežkov na področju farmacije, za katere je zelo pomembno, da se približajo strokovni javnosti, da se komunicirajo in se z njimi lahko pohvalimo, do bolj uporabnih informacij, ki smo jih lačni vsi farmacevti, a so še posebej pomembne v vsakdanji praksi v lekarništvu.

Četrtkovo temo IZBRANE NOVOSTI NA PODROČJU FARMACIJE so udeleženci ocenili z oceno 4,61 od 5, petkovo temo NEVRODEGENERATIVNE BOLEZNI: ALZHEIMERJEVA BOLEZEN IN MULTIPLA SKLEROZA – KJE SMO DANES? so ocenili s 4,79, sobotna tema OČESNE BOLEZNI pa je prejela najvišjo oceno 4,85. Po oceni udeležencev je bil tudi način diskusije po koncu predavanj ustrezno urejen, imeli smo sistem SLIDO in prejeli visoko oceno 4,65, a tudi nekaj pripomb glede upoštevanja urnika in časovnih okvirjev, saj je podaljševanje predavanj vplivalo na celoten urnik in krajšanje odmorov. Organizatorji dogodkov pa pravijo, da je najpomembnejša sestavina kongresov in simpozijev prav odmor, zato se bomo za ohranjanje ustreznih odmorov še bolj trudili.

Predstavitvam novosti s področja umetne inteligence se v prihodnje ne bomo mogli izogniti, zato smo letos povabili dr. Tilna Kranjca, da je spregovoril o možnostih uporabe umetne inteligence v farmaciji in medicini. Izr. prof. dr. Pegi Ahlin Grabnar in doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž pa sta predstavili dosežke farmacevtskih tehnologov in možnosti za subkutano dostavo terapevtskih proteinov in peptidov. V četrtek smo z zanimanjem prisluhnili doc. dr. Petri Kolenc, ki nam je približala radiofarmake in teranostiko, in rezultatom analize obremenitve slovenskih vod s hormoni in hormonskimi motilci (predavatelj asist. dr. Andrej Grobin). Letošnja

novost je bilo predavanje v angleškem jeziku, ki smo ga uvedli zato, da povabimo predavatelja iz tujine, da nam predstavi, kako je farmacija (farmaceutvska skrb, lekarništvo, trg zdravil) organizirana drugje. Izkušnje iz tujine nam je tako predstavila predavateljica Maaïke van Aarle iz Nizozemske. V četrtkov urnik simpozija smo že pred leti uvedli tudi t. i. izbrano ali častno predavanje in letos povabili vsestransko asist. dr. Andrejo Čufar, ki je skozi predstavitev svoje karijerne poti opozorila na odgovornosti, ki jih ima do poklica in družbe vsak farmacevt. Tudi tovrstna predavanja so udeleženci simpozija dobro sprejeli, zato bodo zagotovo tudi v prihodnje na urniku.

V petek smo se cel dan družili s predavateljici in predavatelji, ki so nam predstavili dve degenerativni bolezni, ki sta zelo kompleksni in predstavljata izziv bolnikom, svojcem, zdravnikom, farmacevtom in okolici. V petek dopoldan smo najprej obravnavali Alzheimerjevo bolezen (doc. dr. Milica Gregorič Kramberger, prof. dr. Mojca Lunder, Tina Kajan, prof. dr. Stanislav Gobec, Ana Zgonc Škulj,

Jasmina Lamberger), po kosilu pa multiplo sklerozo (Sarah Gomezelj, doc. dr. Lina Savšek, izr. prof. dr. Tomaž Bratkovič, Danila Hriberšek, izr. prof. dr. Bojan Doljak).

Predavatelji so dobili lepe ocene, ponovno pa je bilo najvišje ocenjeno predavanje tisto, pri katerem je predavatelj izhajal iz osebne izkušnje. O življenju z multiplo sklerozo pod isto streho je predaval izr. prof. dr. Bojan Doljak, ki je predstavil ne le bolezen svoje žene, ampak tudi ljubezen do nje in njeno vztrajnost pri premagovanju vsakdanjih izzivov. Navdušili so nas dosežki raziskovalcev na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani, ki so razvili zdravilo za zdravljenje demence in ga testirali na psih (predavatelj prof. dr. Stanislav Gobec). Dobro obiskana in nekatera tudi odlično ocenjena so bila tudi satelitska predavanja. Hvala vsem sponzorjem, ki so prispevali zanimive vsebine v okviru satelitov in na razstavnih prostorih ter tudi finančno podprli organizacijo dogodka.

Pravijo, da bomo imeli tudi z očmi vedno več težav. V predhodnih anketah so bile večkrat izpostavljene želje, da



Od leve proti desni: prof. dr. Marko Anderluh, predsednik SFD, prof. dr. Franc Vrečer, prejemnik Minařikovega odličja 2024, prejemnice in prejemnika Minařikovih priznanj 2024 mag. Nada Tržan Herman, Barbara Pangeršič, dr. Boštjan Martinc, Marijana Fortuna Lužar, doc. dr. Samo Rožman ter predsednik Odbora za podeljevanje društvenih priznanj pri SFD mag. Vojmir Urlep.



pripravimo izobraževanja na temo očesnih bolezni, zato ne preseneča, da je bila v soboto predavalnica polna in sobotna tema dobro ocenjena (predavatelji: prof. dr. Marko Hawlina, Denis Baš, Patricija Dolinar, Ana Skerlovnik).

V soboto, 18. maja 2024, smo imeli tudi skupščino društva. Skupščino je vodila delovna predsednica Saša Zaviršek Mikolič, ki je v tem mandatu tudi podpredsednica SFD. Sledili smo dnevnomu redu, ki predvideva pregled delovanja društva v preteklem letu in predstavitev načrta za letošnje leto. Naj pri poročilu o delu izpostavimo predvsem veliko število uspešno izvedenih dogodkov: 8 simpozijev, 77 brezplačnih strokovnih izpopolnjevanj po podružnicah, 6 brezplačnih e-izobraževanj, dostopnih na spletni strani SFD, 16 dodatnih strokovnih dogodkov v organizaciji sekcij ter novoletno srečanje Z ROKO V ROKI v soorganizaciji Slovenskega farmacevtskega društva in Slovenskega zdravniškega društva pod pokroviteljstvom družbe Lek, ki je bilo 12. decembra 2023 na temo BREZŠIVNE SKRBI. Organizirali smo tudi 9 družabnih dogodkov, med njimi tradicionalni FarmaSki, FarmaHribe in prvič FarmaJesen, ki je potekala v obliki martinovanja v Beli krajini 21. oktobra 2023. Ob vsem tem pa smo tudi uspešno poslovali in se lotili finalizacije dodatnega poslovnega prostora.

Na skupščini smo na njegovo željo razrešili dosedanjega odgovornega urednika Farmaceutskega vestnika, katerega dolgoletno delo za društvo in Farmaceutski vestnik izjemno cenimo vsi, ki smo z njim kadar koli sodelovali. Funkcijo odgovorne urednice je po potrditvi na skupščini prevzela prof. dr. Mojca Kerec Kos, članica Katedre za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani.

V četrtek, 16. maja 2024, smo v Gledališču Tartini v Piranu podelili pet Minařikovih priznanj in eno Minařikovo odličje posameznikom in posameznicam, ki so v lokalnem, slovenskem ali mednarodnem prostoru naredili nekaj več na področju farmacije. Prejemnik Minařikovega odličja v letu 2024 je prof. dr. Franc Vrečer, mag. farm., prejemniki Minařikovih priznanj 2024 pa so: asist. Marijana Fortuna Lužar, mag. farm., spec., asist. dr. Boštjan Martinc, mag. farm., spec., Barbara Pangeršič, mag. farm., doc. dr. Samo Rožman, mag. farm., spec., in mag. Nada Tržan Herman, mag. farm. Svečana podelitev priznanj vsako leto poteka kot spremljajoči dogodek simpozija ob letni skupščini SFD. Prireditelj je vodila Maja Šumej, srca obiskovalcev pa je prevzel glasbeni nastop priznanega harmonikarja Marka Hatlaka.

PREJEMNIKI IN PREJEMNICE DRUŠTVENIH PRIZNANJ V SLIKI IN BESEDI (objavljena besedila utemeljitev so bila prebrana na svečani podelitvi)



PREJEMNICA Minařikovega priznanja 2024 je MARIJANA FORTUNA LUŽAR

Marijana Fortuna Lužar si je želela postati farmacevtka že v otroštvu. Po končanem študiju se je zaposlila v bolnišnični lekarni Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana. Tam jo je najbolj pritegnilo delo v centralizirani pripravi protitumornih pripravkov, kjer je pod vodstvom magistre Tajde Miharija Gala prvič prišla v stik z delom, ki ga opravlja še danes.

Leta 2002 jo je vedoželjnost vodila v bolnišnično lekarno Onkološkega inštituta. S svojo specialistično nalogo, ki jo je opravila pod somentorstvom magistre Monike Sonc, je bila Marijana začetnica računalniško vodene priprave protitumornih pripravkov v lekarni Onkološkega inštituta in tudi v Sloveniji.

Kot mentorica svoje znanje in izkušnje vestno predaja študentom farmacije, specializantom klinične farmacije in številnim diplomiranim medicinskim sestram v okviru pridobivanja specialnih znanj za delo s citostatiki. Sodeluje v Komisiji za nadzor ravnanja s prepovedanimi drogami in Komisiji za interni nadzor upravljanja z zdravili na oddelkih Onkološkega inštituta.

V Slovenskem farmacevtskem društvu je članica že več kot 20 let. Sodeluje pri izobraževanjih za magistre farmacije z aktualnimi temami s področij onkologije, terapije bolečine in zdravljenja slabosti in bruhanja zaradi sistemskega zdravljenja raka. Je dolgoletna aktivna članica izvršnega odbora Sekcije bolnišničnih farmacevtov in nenehno sodeluje z Evropskim združenjem bolnišničnih farmacevtov, EAHP, kjer je vedno bolj vključena v različne delovne skupine.





Marijana Fortuna Lužar je izredno pripomogla k prepoznavnosti bolnišnične farmacije tako med slovenskimi kolegi kot med kolegi v ostalih evropskih bolnišnicah z vsakoletnimi strokovnimi prispevki na kongresu EAHP, zato ji Slovensko farmacevtsko društvo podeljuje Minařikovo priznanje 2024.

PREJEMNIK Minařikovega priznanja 2024 je asist. dr. BOŠTJAN MARTINC

Boštjan Martinc je diplomiral leta 2006. Po zaposlitvi v Javnem zavodu Lekarna Ljubljana je študij nadaljeval in leta 2014 specializiral s področja klinične farmacije, leta 2015 pa doktoriral na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani.

Svoje znanje prenaša na študente ter sodeluje pri praktičnem usposabljanju in je mentor študentom. Sodeluje z zdravstvenimi domovi Vrhnika, Litija in Domžale kot farmacevt svetovalec. Preko sodelovanja pri dogodku *Noč raziskovalcev* delo farmacevta v lekarni vsako leto približa tudi širši javnosti. V farmacevtski stroki je predvsem poznan po svojem delovanju na področju zdravljenja sladkorne bolezni, saj opravlja funkcijo nacionalnega koordinatorja za farmacevtsko skrb pri sladkorni bolezni in je član različnih delovnih skupin s tega področja.

S svojimi predavanji je reden gost simpozija ob skupščini SFD, pa tudi avtor številnih člankov v Farmaceutskem vest-



niku in drugih strokovnih revijah. Predava tudi na letnih izobraževanjih za farmacevte, ki jih organizira Lekarniška zbornica Slovenije. Je avtor desetih izvornih znanstvenih člankov.

Boštjan Martinc s svojim širokim znanjem in izkušnjami pomembno prispeva k razvoju slovenske farmacevtske stroke in prepoznavnosti poklica v laični javnosti, zato mu Slovensko farmacevtsko društvo podeljuje Minařikovo priznanje 2024.

PREJEMNICA Minařikovega priznanja 2024 je BARBARA PANGERŠIČ

Barbara Pangeršič se je po diplomi leta 1982 zaposlila v Celjskih lekarnah in kot zelo mlada prevzela vodenje lekarniške enote Vojnik in jo skozi leta prostorsko, organizacijsko in strokovno nadgradila v sodobno lekarno, ki sedaj zaposluje devet strokovnih delavcev. Leta 2014 so kot prva lekarna Javnega zavoda Celjske lekarne in med prvimi lekarnami v Sloveniji vpeljali avtomatiziran sistem skladiščenja zdravil. Aktivno je sodelovala pri pripravi protokolov v projektu Celovito upravljanje kakovosti v Celjskih lekarnah in bila vodja projekta Intervencije. Osem let je opravljala tudi nadzorno in svetovalno delo v lekarni Psihiatrične bolnišnice Vojnik.

Je večletna vodja in zdaj članica komisije, ki v poplavi različnih prehranskih dopolnil in ostalih izdelkov po strokovnih



kriterijih in po tehtni presoji odloča o uvrstitvi kakovostnih izdelkov v prodajni program Celjskih lekarn. Že od leta 1982 je članica SFD, kjer je aktivno sodelovala v odborih društva in osem let tudi vodila Celjsko podružnico kot predsednica. Kot dolgoletna uspešna mentorica mladim sodelavcem, študentom in dijakom je prepoznana in cenjena tudi v krogih zdravnikov in ostalih zdravstvenih sodelavcev.

Barbara Pangeršič s svojo poklicno zavzetostjo, primernim odnosom do sodelavcev in strokovne javnosti ter uporabnikov storitev v lekarni uspešno promovira vlogo in pomen poklica farmacevta kot zdravstvenega delavca, zato ji Slovensko farmacevtsko društvo podeljuje Minaříkovo priznanje 2024.

PREJEMNIK Minaříkovega priznanja 2024 je doc. dr. SAMO ROŽMAN

Samo Rožman je svojo poklicno pot začel leta 2007 na Onkološkem inštitutu Ljubljana. V letu 2011 je uspešno zaključil specializacijo s področja klinične farmacije in 2016 doktoriral na Fakulteti za farmacijo. Udeležil se je tudi 13-mesečnega izpopolnjevanja iz onkološko-klinične farmacije v Houstonu v Združenih državah Amerike.

Svoje široko teoretično znanje je povezoval s strokovnim delom in se vsak dan zavzemal za dobrobit pacientov in povečanje prepoznavnosti onkološke in klinične farmacije.

Samo Rožman je že od študentskih let član Slovenskega farmacevtskega društva, bil je tudi član izvršnega odbora Sekcije kliničnih farmacevtov.

V letih 2014 in 2015 je sodeloval pri razvojni nalogi Kakovostno predpisovanje zdravil kot eden izmed farmacevtov svetovalcev, ki so utirali pot kognitivnim storitvam farmacevtov.

Je avtor številnih znanstvenih in strokovnih člankov, publikacij za študente in specializante zdravstvenih ved ter slovenskih kliničnih smernic. Aktivno je sodeloval kot vabljen predavatelj na mnogih mednarodnih in domačih kongresih, šolah in izobraževanjih farmacevtov ter drugih zdravstvenih delavcev. Kot mentor je zaznamoval karierno pot številnih študentov farmacije, specializantov klinične farmacije in farmacevtskih tehnikov.

Po 15-letnem delu na Onkološkem inštitutu Ljubljana se je podal novim poklicnim izzivom naproti. Pravi, da mu je ravno poglobljeno znanje iz klinične in onkološke farmacije odprlo pot do novih priložnosti. Od lanskega leta je zaposlen v podjetju Lek v Razvojnem centru Slovenija na oddelku za Globalni medicinski razvoj.

Samo Rožman je poznan kot delaven, vester, dostopen, vedno prijazen in zelo strokoven.

S svojim predanim delom je veliko pripomogel k prepoznavnosti kliničnih farmacevtov v klinični praksi kakor tudi k prepoznavnosti Sekcije kliničnih farmacevtov pri Slovenskem farmacevtskem društvu, zato mu društvo podeljuje Minaříkovo priznanje 2024.



PREJEMNICA Minaříkovega priznanja 2024 je NADA TRŽAN HERMAN

Nada Tržan Herman je leta 1975 je začela delati v prodaji podjetja Salus. Leta 1986 se je zaposlila v Leku kot vodja specialne knjižnice. Poskrbela je za računalniško dostopne strokovne informacije in podatkovne zbirke na nosilcih. Aktivna je bila v Evropskem združenju za zdravstveno informatiko in knjižnice. Leta 2001 je magistrirala v Londonu na temo vzpostavitve informacijskega centra za zdravila v Sloveniji. V Lek je pripeljala internet in sodelovala pri vsebinah za intranet ter delala tudi na oddelku za intelektualno lastnino. Sodelovala je s Fakulteto za farmacijo pri praktikumu iz strokovne informatike, pomagala tudi pri iskanju člankov za diplome, magistracije in doktorate. Tudi sama je objavila več kot 15 člankov in imela predavanja doma in v tujini. Po upokojitvi je med letoma 2007 in 2009 v bolnišnični lekarni v Psihiatrični bolnišnici Vojnik kot prva zaposlena farmacevtka vzpostavljala informacijski sistem za javna naročila zdravil in se zavzemala za zaposlitev kliničnega farmacevta. Dela tudi na humanitarnem področju. Članica SFD je že od leta 1976. Trenutno je članica Sekcije seniorjev in Sekcije za zgodovino farmacije, kjer aktivno sodeluje. Impresiven je nabor njenih aktivnosti na številnih področjih, ki se jih je lotevala s pionirsko zagnanostjo in profesionalno voljo dati od sebe čim več in najboljše.



Nada Tržan Herman za njen prispevek k uvedbi informatike na področju farmacije in lekarništva Slovensko farmacevtsko društvo podeljuje Minaříkovo priznanje 2024.

PREJEMNIK MINAŘIKOVEGA ODLIČJA 2024 JE PROF. DR. FRANC VREČER

Franc Vrečer je študij farmacije na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani zaključil leta 1983 in se zaposlil kot mladi raziskovalec. Od leta 1991 je zaposlen v Krki v Novem mestu, kjer opravlja funkcijo pomočnika direktorja Razvoja in raziskav zdravil. Od leta 2004 je dopolnilno zaposlen na Fakulteti kot učitelj in raziskovalec in ima naziv redni profesor. V slovenskem farmacevtskem prostoru in širše je poznan kot raziskovalec s širokim spektrom delovanja na področju farmacevtske tehnologije. Kot predan pedagog svoje znanje in izkušnje nesebično predaja mlajšim generacijam, ob tem pa skrbi za sodelovanje med akademsko sfero in industrijo. Bogati ga samoiniciativnost, prodornost, natančnost, doslednost in poštenost. Napisal je več kot 90 znanstvenih člankov, je avtor in soavtor kar 29 podeljenih mednarodnih patentov. S svojim

znanjem in razumevanjem lastnosti snovi in procesov je pomembno prispeval k uspešnemu razvoju številnih Krkinih generičnih farmacevtskih izdelkov. Posebej bi lahko izpostavili njegov prispevek k razvoju Krkinih izdelkov v obliki pelet, pri katerih je svoje akademsko znanje prelil v uspešne aplikativno-tehnološke rešitve na industrijskem nivoju.

Franc Vrečer je bil mentor in somentor pri številnih diplomskih, magistrskih in specialističnih nalogah ter skupaj 24 doktorskih disertacijah. Bil je pobudnik in snovalec magistrskega študijskega programa Industrijska farmacija, kjer je tudi nosilec predmetov.

Komisija za slovensko farmacevtsko tehnološko terminologijo pri SFD, ki jo je vodil skozi daljši čas, je na njegovo pobudo leta 1996 izdala knjižico Standardni far-



macevsko tehnološki izrazi. V mandatu 1997–1999 je bil predsednik Slovenskega farmacevtskega društva, pred tem štiri leta predsednik Tehnološke sekcije, kasneje predsednik Znanstvene sekcije, vrsto let pa aktiven član različnih odborov in organov SFD. Sodeloval je tudi pri organizaciji številnih mednarodnih simpozijev. Od leta 2004 je član Sveta sklada Krkinih nagrad in član drugih

znanstvenih in strokovnih mednarodnih, slovenskih in lokalnih komisij.

Za znanstvene, inovacijske, strokovno-organizacijske in pedagoške prispevke k slovenski farmaciji, ki so tudi mednarodno cenjeni in upoštevani, Slovensko farmacevtsko društvo v letu 2024 podeljuje Minaříkovo odličje prof. dr. Francu Vrečerju.

GOVOR PREJEMNIKA MINAŘIKOVEGA ODLIČJA

Franc Vrečer

Spoštovani predsednik slovenskega farmacevtskega društva, cenjeni visoki gostje, spoštovane kolegice in kolegi! V čast in ponos mi je, da vas lahko nagovorim ob današnji slovesnosti v imenu vseh prejemnikov letošnjih priznanj društva in seveda svojem imenu. Ob tem se želim najprej iskreno zahvaliti za podeljena priznanja, ki bodo gotovo spodbuda za naše aktivno delo za napredek slovenske farmacevtske stroke tudi v prihodnje.

K stalnemu napredku farmacije kot stroke v Sloveniji je tako v preteklosti kot tudi danes v veliki meri pripomoglo Slovensko farmacevtsko društvo in njegovi številni aktivni člani. Imel sem velik privilegij, da sem v svojem skoraj štiridesetletnem delu v okviru društva lahko delal z mnogimi posamezniki – farmacevti, ki so s svojim prispevkom pustili velik pečat v stroki in društvu in mi bili s tem neprecenljiv vzor in spodbuda tudi za moje delo na strokovnem področju.

Izzivov in priložnosti za napredek farmacevtske stroke, kljub vsem dosežkom v preteklosti, tudi danes ne manjka. Srčika našega dela v stroki danes in še posebej jutri, ne glede na katerem področju posameznik dela, mora biti dobrobit bolnikov in, ker smo farmacevti del zdravstvene stroke, tudi visoka etičnost. Oba vidika sta danes, ko je v družbi vse več egoizma in neetičnega ravnanja, izrednega pomena, še posebej na področju zdravstva, ko imamo opravka z ranljivimi in prizadetimi soljudmi.

Delati na farmacevtskem področju, bodisi v lekarnah, farmacevtski industriji, javnih in znanstveno-izobraževalnih ustanovah je zame več kot poklic. Je način življenja in razmišljanja, je življenjsko poslanstvo, katerega osnovni namen mora biti delati v dobro sočloveka, posebej bolnega in mu pomagati. To mora biti najpomembnejši cilj vsakega zdravstvenega delavca.

Danes smo priča neverjetno hitrim spremembam in implementaciji znanstvenih dosežkov ter umetne inteligence v vsa področja farmacevtske stroke. Ob tem moramo far-



macevti skrbeti, da so vse spremembe in novosti v dobrobit bolnikov in družbe. Farmacevti, kot pomemben del zdravstva, imamo veliko odgovornost, da svoje znanje in izkušnje, ki temeljijo na znanstveno in strokovno potrjenih do-gnanjih, širimo v laično javnost in skrbimo za njihovo uveljavitev v družbi. To je še posebej pomembno danes, ko se v družbi preko sodobnih medijev širijo številne strokovno oporečne oz. celo za zdravje in varnost bolnikov nevarne informacije. Covid pandemija je razkrila pomanjkanje zaupanja dela laične javnosti do mnenj zdravstvenih strokovnjakov, k čemur smo vsaj delno pripomogli tudi sami zdravstveni delavci – tudi farmacevti. Samo s složnostjo v stroki, strokovno kritičnostjo, vendar ne kritikanstvom, z znanjem, temelječem na strokovno in znanstveno potrjenih informacijah, poštenostjo ter sodelovanjem strokovnjakov tako znotraj farmacevtske stroke kot zunaj nje bomo lahko udejanjali naše poslanstvo in krepili pomen farmacevtske dejavnosti ter povrnili zaupanje ljudi do zdravstvenih delavcev – tudi farmacevtov.

Hvaležen sem, da sem imel priložnost delati na številnih farmacevtskih področjih – od začetkov na lekarniškem področju, preko dolgoletnega dela v Krki in na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani ter seveda v našem društvu. Iskreno sem hvaležen tudi za vse strokovne izzive in priložnosti, s katerimi sem se srečal na svoji profesionalni poti. Njihovo reševanje mi je omogočilo strokovno in osebno rast in postati to, kar danes sem. Za uspešno delo

v agilni stroki, kot je farmacija, je ključno povezovanje *up-to-date* strokovnega znanja z realnimi delovnimi izkušnjami in poznavanje strokovnih in znanstvenih trendov in izzivov na farmacevtskem in sorodnih področjih in to mi je moje delo v Krki tudi omogočilo.

Slovenska farmacevtska stroka in društvo stojita na trdnih temeljih, ki so jih zgradili številni izjemni posamezniki v več kot sedemdesetletni zgodovini društva, današnje in prihodnje generacije farmacevtov pa moramo oz. morajo te temelje nadgrajevati in prilagajati spremembam in napredku v družbi, stroki in znanosti, pri čemer pa se ne sme izgubiti temeljnega poslanstva našega dela. Vsem kolegicam in kolegom, sedanjim in bodočim, želim, da iščete vedno nove strokovne izzive in jih z vso svojo energijo in znanjem uspešno rešujete in s tem zagotovite bolnikom in družbi boljši in bolj zdrav jutri.

Na koncu se želim še enkrat zahvaliti za prejeto Minařikovo odličje, ki mi ob zaključku moje aktivne dobe res ogromno pomeni, posebej ob misli na vse prejemnike Minařikovega odličja v preteklih letih in njihov prispevek k razvoju in današnjemu položaju farmacije v Sloveniji. Iskrena hvala tudi vsem vam v dvorani, da ste trenutke velike časti za nas, prejemnike letošnjih društvenih priznanj, delili z nami.

Želim vam še naprej lep večer in uspešno delo v stroki.

prof. dr. Franc Vrečer, mag. farm.



SIMPOZIJ SEKCIJE FARMACEVTSKIH TEHNIKOV NA ROGLI

Monika Vesel



Letošnji simpozij Sekcije farmacevtskih tehnikov pri Slovenskem farmacevtskem društvu (SFD) je tradicionalno potekal na Rogli v hotelu Planja. Je bila pa letos prav posebna obletnica, saj smo z dvodnevni simpoziji začeli že leta 2004. Ob tej jubilejni obletnici nas je predsednica sekcije spomnila na pomen Srednje šole za farmacijo, kozmetiko in zdravstvo, ki je bila ustanovljena leta 1945, pomen Slovenskega farmacevtskega društva, ki je bilo osnovano leta 1950, in pomen Sekcije farmacevtskih tehnikov, ki je ena od dvanajstih sekcij pri SFD. Vprašanje za vse sodelujoče je bilo, kaj imajo vse te organizacije skupnega. Odgovor je bil izobraževanje in druženje.

Skozi vsa ta leta se tako Srednja šola kot tudi SFD trudita ponuditi čim več kakovostnih izobraževanj. Izobraževanja in druženja s kolegi krepijo našo poklicno samozavest in omogočajo sklepanje novih prijateljstev. Tako se tudi za vsak simpozij prav posebej pripravimo, saj se zavedamo

pomena kakovostno izbranih predavanj in s tem pridobivanja strokovnega znanja, ki ga uporablja pri svojem delu. Letošnja tema je bila skrb za zdravje.

Že mnogo let se našega simpozija udeležujejo tudi predstavniki farmacevtskih tehnikov iz Hrvaške in Srbije, letos pa sta bili z nami po dolgih letih tudi predstavnici iz Črne gore. Črnogorsko društvo farmacevtskih tehnikov je staro komaj dobro leto in ravno naš simpozij jim je dal še več zagona za dobro delo v prihodnosti, saj so videli, kako je vse organizirano in kako kakovostna predavanja imamo. Petkovo dopoldne smo začeli z zelo poučnim predavanjem magistre Sare Korošec o pomenu deklaracij na živilih. Branje označb na živilih je pomembno, saj s tem dobimo informacije o izdelku. Le z dobro prebrano deklaracijo namreč lahko ocenimo, ali je izdelek primeren za uporabo ali ne. Sledilo je predavanje dr. Tadeje Kotar iz UKC Ljubljana o tem, kaj moramo storiti, da bodo naša potovanja potekala

s čim manj zdravstvenimi zapleti. Opozorila nas je, na kaj vse moramo biti pozorni pri potovanjih v različne dela sveta, od uživanja hrane do prežech nevarnosti ter o obveznih in neobveznih cepljenjih. Da si z makrogoli lahko pomagamo pri težavah z zaprtjem, nam je iz dolgoletnih izkušenj predstavil dr. Klemen Mojškerc. Z zanimanjem smo prisluhnili tudi doc. dr. Evgenu Benediku o tem, kaj vse vpliva na našo kožo – tako zunanji dejavniki kot tudi vitamini in minerali, ki so pomembni za zdravo in sijočo kožo.

Lahko se pohvalimo, da smo letos prvič organizirali tudi delavnico z eteričnimi olji. Andreja Kolarič nam je predstavila pomen eteričnih olj in pomen pravilne uporabe le-teh. Odziv na delavnico je bil izjemen in s tem smo dobili potrditev, da smo na pravi poti in da si želimo še več uporabnih in praktičnih delavnic. Po kosilu je sledilo tradicionalno sankanje na Zlodjevem. Vsi pa smo nestrno čakali tudi na večerjo in DJ Tita, ki nas je zazibal v plesnih ritmih do zgodnjih jutranjih ur. Sobota dopoldne je bila rezervirana za občni zbor. Predsednica sekcije Monika Vesel je zbranim povedala vse o dogodkih v preteklem letu in načrtih za obdobje 2024/25. Strokovno predavanje o pomenu in ohranjanju dobrega imunskega sistema je imela magistra Nataša Čater. Simpozij pa smo zaključili z veliko smeha. Učiteljica smejalne joge Simona Krebs nas je pripravila do tega, da smo se skozi različne tehnike sprostili, aktivno sodelovali in res ve-

liko smejali. Simpozij smo tudi zaključili nasmejani in domov odšli polni znanja in dobre volje.

Letošnji simpozij je bil poseben in rekorden še po nečem. Sodelovalo je kar 57 različnih farmacevtskih podjetij. Glavni sponzor je bilo podjetje Medis. Lahko si štejemo v čast, da se toliko podjetij zaveda, kako pomemben del strokovnega tima v lekarni je dobro izobražen farmacevtski tehnik. Simpozij se bomo potrudili še nadgraditi in privabiti še več farmacevtskih tehnikov, željnih novih znanj in prijetnega druženja.



34. SIMPOZIJ SEKCIJE FARMACEVTSKIH TEHNOLOGOV: PODATKOVNA ANALITIKA V FARMACEVTSKI TEHNOLOGIJI

Natalija Škrbina Zajc



Farmaceutski tehnologi Slovenskega farmacevtskega društva vsako leto nestrno pričakujemo junij, saj takrat nastopi čas za naše letno strokovno posvetovanje. To ni le priložnost za širjenje obzorij znanja in izmenjavo strokovnih mnenj, ampak tudi čas za sproščeno druženje s kolegi iz različnih delovnih okolij. Letošnji dogodek, že 34. zapovrstjo, je potekal 13. junija v Ljubljani, na sedežu družb Novartis, d. o. o., in Lek, d. d., kjer se je zbralo 94 domačih udeležencev iz akademskega okolja in farmacevtske industrije. Tema letošnjega srečanja je bila **Podatkovna analitika v farmacevtski tehnologiji**, v programu simpozija pa je sodelovalo deset predavateljev.

Simpozij je bil posvečen raziskovanju najnovejših pristopov in orodij za učinkovito uporabo podatkov v farmacevtski tehnologiji, spoznali pa smo tudi praktične primere uporabe

naprednih analiznih metod. V uvodu smo prisluhnili predavanju o osnovah, zgodovini in tehnologiji umetne inteligence, s poudarkom na njenem hitrem razvoju in izraženi potrebi po etičnem delovanju in nadzoru. V nadaljevanju smo spoznali izzive in koristi digitalizacije podatkov v farmacevtskem razvoju, kjer so za učinkovito analizo potrebni točni in popolni podatki. V sklopu predstavitve orodja Orange smo si ogledali uporabnost programa na primerih analize ramanskih spektrov in kemometrične analize slik bukalnih filmov. Spoznali smo sisteme za avtomatsko vizualno pregledovanje farmacevtskih izdelkov, kjer je za nastavitev naprav ključna natančna opredelitev kriterijev vizualne ustreznosti. V dopoldanski sekciji smo med drugim izvedeli tudi, da lahko s pomočjo pospešenih študij stabilnosti in modelov kinetike razgradnje napovemo dolgoročno

stabilnost bioloških zdravil z izboljšano napovedno robustnostjo in natančnostjo.

V popoldanskem delu srečanja smo prisluhnili predavanju o izzivih definiranja eksperimentalnega prostora. Slišali smo, da je za razvoj izdelka z vgrajeno kakovostjo zaradi soodvisnosti kritičnih atributov kakovosti izdelka, kritičnih atributov materialov in kritičnih procesnih parametrov smiselno uporabiti integriran pristop, ki vključuje znanstvene, statistične, praktične in regulativne vidike. Vrtinčnoslojno granuliranje smo pogledali skozi prizmo metode glavnih komponent, ki v sklopu analize procesnih parametrov omogoča zmanjšanje števila spremenljivk na dve ali tri glavne komponente, to pa olajša prepoznavanje vzorcev in povezav med procesnimi parametri in lastnostmi produkta. Predavanje o semiempiričnem modeliranju je izpostavilo izzive prenosa tehnologije na industrijsko raven. Z razvojem *scale-up* modela mokrega krogljčnega mletja so uspeli poenostaviti razvoj procesa, model pa so tudi potrdili z uspešnim prenosom na industrijski nivo. Strokovni del družjenja smo zaključili s prispevkom o razvoju modela za avtomatsko integracijo kromatogramov na podlagi strojnega učenja in statističnih metod, kar bistveno pospeši razvoj in analizo podobnih bioloških zdravil.



Glede na odzive udeležencev ocenjujemo, da je bila vsebina simpozija aktualna, izredno zanimiva in dobrodošla v smislu nadgradnje znanja, ki bo vsekakor pripomoglo k uspešnemu razvoju novih zdravil in optimizaciji proizvodnih procesov.

Ob tej priložnosti se iskreno zahvaljujem članoma organizacijskega odbora, dr. Zrinki Abramović in dr. Zoranu Lavriču, generalni sekretarki SFD, dr. Andrijani Tivadar, Nataliji Gerbič s SFD ter dr. Mihi Homarju za odlično sodelovanje pri organizaciji in izvedbi dogodka. Velika hvala tudi našim stalnim sodelavcem:

 NOVARTIS

SANDOZ

 Silex

 KRKA



MOZAIK HVALEŽNOSTI

Zahvala
prof. dr. Borutu Štruklju
za njegovo uredniško
delo



Leta 1999 sem v 2. številki Farmaceutskega vestnika, letnik 50, objavila svoj prvi strokovni članek z naslovom »Uporaba in lastnosti rekombinantnega insulina«, ki je nastal na podlagi seminarske naloge pri podiplomskem predmetu pod mentorstvom prof. dr. Boruta Štruklja. Prof. Štrukelj je bil takrat že odgovorni urednik Farmaceutskega vestnika.

Ob zaključku njegove funkcije kot odgovornega urednika Farmaceutskega vestnika smo se mu v imenu Slovenskega farmacevtskega društva zahvalili za njegovo predano delo in prispevek k strokovni skupnosti na letošnjem simpoziju ob 49. skupščini v Portorožu. V pričujočem mozaiku se mu skušam zahvaliti tudi bolj osebno. Za podobno zahvalo pa sem prosila tudi nekatere druge kolege in kolegice, ki so s prof. Štrukljem delali zadnjih 25 let.

Prof. dr. Borut Štrukelj se v kolofonu Farmaceutskega vestnika (FV) prvič pojavi kot član uredniškega odbora in odgovorni urednik maja 1998, ko je izšla posebna številka FV na temo simpozija SFD v Portorožu, ki je bila posvečena prof. dr. Francu Kozjeku. Glavni urednik FV je bil takrat prof. dr. Aleš Krbavčič, gostujoči pa prof. dr. Stanislav Primožič. Leta 1998 je bila 23. skupščina SFD, ki sicer ni bila volilna. Predsednik SFD Franc Vrečer pa je v letnem poročilu o delu društva za leto 1998 napisal, da je izvršni odbor SFD na predlog glavnega urednika FV prof. Krbavčiča imenoval nov uredniški odbor in odgovornega urednika prof. Štruklja. Tako sta po novem uredniško politiko vodila glavni in odgovorni urednik. Tehnična urednica je bila Jelka Dolinar,

katere delovno mesto na SFD se je v tem letu spremenilo iz poslovne tajnice v generalno sekretarko. Za FV in tudi SFD je bilo to kar prelomno leto, saj so delegati na 23. skupščini podprli tudi zbiranje sredstev za lastne prostore. Prelomno pa je bilo tudi zame, saj sem tega leta diplomirala, se vpisala na podiplomski študij in se zaposlila na Fakulteti za farmacijo kot mlada raziskovalka.

Se spomnite uvodnikov prof. Štruklja? Tudi tisti, ki niste z zanimanjem prebirali znanstvenih člankov, ste zagotovo vedno prebrali uvodnik. Toda uvodniki odgovornega urednika niso od vedno. Včasih je bil uvodnik objavljen samo kot beseda gostujočega urednika v posebnih številkah FV. V 2. številki FV, letnik 55, ki je izšla junija 2004, pa smo lahko prebrali uvodnik častnega glavnega urednika prof. Krbavčiča, ki se je navezal na pridružitve Slovenije Evropski uniji, v naslednji redni številki (oktobra 2004) je bil objavljen prvi uvodnik odgovornega urednika prof. Štruklja. Iz spomina je že ušlo, pa sem odkrila ravnokar, da sem leta 2004 v decembrski številki celo jaz napisala uvodnik, s katerim sem napovedala prenovno FV, ki je od leta 2005 do danes enakega prepoznavnega formata (dimenzije 210 mm x 260 mm). Hvala, prof. Štrukelj, tudi v imenu bralcev FV za vse vaše uvodnike, v katerih je bila poleg napovedi prispevkov, objavljenih v posameznih številkah FV, vedno tudi kakšna prodorna misel, ki nas je nagovorila in vzpodbudila h kritičnemu razmišljanju in krepitvi enotne profesionalne skupnosti.

Danes pišem ta kamenček v mozaiku hvaležnosti prof. Štruklju kot generalna sekretarka SFD, saj sem septembra

2019 nasledila Jelko Dolinar, ki sem jo spoznala leta 2000, ko sta me s prof. Štrukljem povabila, da priskočim na pomoč kot tehnična urednica FV. Takrat se je začelo moje sodelovanje s Farmaceutskim vestnikom, ki mi je zelo veliko pomenilo. Od maja 2004 do septembra 2009 sem opravljala naloge glavne urednice Farmaceutskega vestnika, prof. Krbavčič pa je bil v tem času častni glavni urednik. Nato je funkcijo glavne urednice prevzela dr. Petra Slanc Može in kasneje dr. Nina Kočevar Glavač. V vsem tem času, ko sem bila tehnična in potem glavna urednica FV, sem imela vedno pomoč prof. Štruklja, tako pri iskanju recenzentov kot tudi pri strokovnih vprašanjih in odločitvah glede prispevkov, ki smo jih sprejeli v anonimiziran recenzijski postopek in potem v objavo ali pa smo jih zavrnil. Zdi se mi, da prof. Štrukelj ni bil le angel varuh Farmaceutskega vestnika, ampak je bil tudi angel varuh moje kariere poti. Pa morda se tega niti ni zavedal. Zato mu javno izrekam zahvalo in si želim, da bi bil tudi v prihodnje tako aktiven in zvest član SFD.

dr. Andrijana Tivadar

Kolega Borut Štrukelj se je zanimal za raziskovalno delo na Katedri za farmacevtsko kemijo, vendar takrat nismo imeli razpoložljivih mest. Svetoval sem, naj sprejme ponudbo Instituta »Jožef Stefan« na oddelku za biokemijo pri prof. Turku. Tam je razvil uspešno kariero, le neradi so ga spustili iz rok. Na Katedri za farmacevtsko biologijo je uspešno razširil koncept gledanja naprej od farmakognozije na področje bioloških zdravil. To področje dandanes dosega, če ne presega, področja sinteznih zdravil. Današnje stanje, kadrovske na Katedri za farmacevtsko biologijo in po dosežkih sodelavcev, je njegova zasluga. Zelo uvidevno je nudil svojo pomoč Farmaceutskemu vestniku, vedno mi je pripisoval naloge glavnega, kasneje naslov častnega glavnega urednika, čeprav je koncept uspešnega FV tudi njegovo delo.

prof. dr. Aleš Krbavčič

Prof. dr. Boruta Štruklja sem spoznala leta 1997, ko se je vrnil s podoktorskega izpopolnjevanja na Nizozemskem in se zaposlil na Institutu »Jožef Stefan«. Bil je prvi strokovnjak, ki je v devetdesetih letih za člane SFD predaval o biotehnologiji in rekombinantnih zdravilih. To zapleteno novo po-

dročje farmacije, o katerem med študijem mnogi nismo nič slišali, je s preprosto in jasno razlago, ki jo je obogatil s praktičnimi primeri iz različnih naravoslovnih ved, znal približati poslušalcem. Njegova predavanja so bila vedno odlično ocenjena.

Kot odgovorni urednik Farmaceutskega vestnika je bil odprt za uvajanje novosti, ki bi bile v prid slovenski farmaciji. Podpiral je prizadevanja, da bi se Farmaceutski vestnik uvrstil v seznam revij z dejavnikom vpliva, vendar ni obupal, ko se je ta ideja izkazala kot neizvedljiva zaradi slabega odziva slovenskih raziskovalcev. V strpnem dialogu z uredniškim odborom in izdajateljskim svetom je bistveno prispeval k ohranjanju znanstveno usmerjenega strokovnega glasila slovenske farmacije, hkrati pa omogočil, da so več priložnosti za objave člankov dobili farmacevti, ki delujejo v praksi. Povezanost stroke in znanosti je gradil tudi kot predsednik organizacijskih odborov simpozijev ob rednih letnih skupščinah SFD, ki jih je vodil v letih od 2006 do 2013.

Kot avtor je sodeloval pri mnogih strokovnih in znanstvenih monografijah, ki jih je izdalo SFD, najbolj intenzivno pri izdaji monografije »Biološka zdravila« leta 2007. K sodelovanju je pritegnil slovenske znanstvenike, pretežno univerzitetne profesorje s Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani, sam pa je sodeloval kot sourednik in avtor, hkrati vodil organizacijsko-tehnično pripravo monografije in poskrbel za finančno realizacijo, kar ni samoumevno dejstvo. Pogostokrat je ravno to glavni razlog, da dobre publikacije obležijo v predalih.

Prof. Štrukelj je še vedno zelo zaposlen, nikoli ni imel veliko prostega časa, za sestanke smo se s težavo usklajevali. Vseeno je bilo sodelovanje z njim enostavno in zelo prijetno. V okolje je vnašal veliko dobre volje, tudi v kritičnih trenutkih je z njemu značilnim humorjem znal razelektriti ozračje in kar je najbolj pomembno, problemov, ki so nastali bodisi zaradi kake objave v Farmaceutskem vestniku ali izjave na simpozijih, ki jih je vodil, ni reševal v okviru kolektivne odgovornosti, ampak sam z argumenti in vedno uspešno. Želim mu, da bi tudi v prihodnje našel še veliko vznemirljivih izzivov, ki jih je vedno iskal!

Jelka Dolinar

Srečanje z vlogo prof. dr. Boruta Štruklja pri Farmaceutskem vestniku in moje spoznanje, da je bil odgovorni urednik, je prav hudomušno. Pripravljala sem seminarsko nalogo pri predmetu toksikologije. Povsem slučajno mu je zaradi so-



delovanja s profesorjem z Biotehniške fakultete prišla pod prste moja seminarska naloga. Kot sem spoznala kasneje, je kolega Borut vedno imel oziroma ima izreden občutek za trud drugih in širino. Vedno je podpiral kolege, ki smo svojo pot šele začinjali, in nam odpiral vrata ter nas spodbujal k nenehnemu hrepenenju po novem, po znanju in zato mu bom vedno hvaležna. Tako pri raziskovalnem in pedagoškem delu kot pri razvoju Farmaceutskega vestnika je vedno dajal prednost mladim, ki smo prihajali za njim, in s svojo povezovalnostjo predstavljal medgeneracijski most, ki uspe redkim.

Pa če se vrnem nazaj, spodbudil me je, naj seminarsko nalogo pretvorim v prispevek za Farmaceutski vestnik. Prispevek sem res poslala za objavo in prišli so recenzentski popravki. Med recenzenti je bil tudi profesor dr. Krbavčič, s katerim sva se usklajevala. Na koncu pa mi je kolega Krbavčič naročil, naj popravke pošljem kar uredniku. Lahko si predstavljate, kako sem se počutila, ko sem dobila odgovor na vprašanje, kdo je urednik. »Kolegica, kako ne veste, saj vas je povabil k sodelovanju.« To bi pa res lahko vedela, a ne, je takrat odzvanjalo v moji glavi.

Po objavi članka me je kolega Borut povabil k pisanju novic, saj si je želel v Farmaceutski vestnik uvesti neko novost. Zanimivosti – »Novice« in »Prebrali smo za vas« – so bile s strani kolegov zelo dobro sprejete, saj so povzemale informacije iz objavljenih prispevkov, do katerih takrat niso imeli vsi dostopa, ali pa zaradi pomanjkanje časa ne bi nikoli izvedeli, kaj je novega na našem širokem farmacevtskem polju. Še danes se spomnim, da smo pisali o prvih bioloških zdravilih, ki so danes že domala vsakdanjik.

Iz pisanja in urejanja novic se je moje sodelovanje po odhodu tedanje glavne urednice nadaljevalo v vlogo glavne urednice Farmaceutskega vestnika,. Danes, ko gledam nazaj, so bila to le ena od številnih vrat. Prebiranje člankov, komunikacija z recenzenti in avtorji ter debate o vsebini člankov pustijo na človeku pečat, ki je dan le redkim. Poleg omenjenega pa človek spozna širino človeka, ki je na drugi strani, in ta je pri kolegu Borutu izjemna. Borut, hvala za vsa skupaj preživeta spoznanja ter številne razprave o življenju, veselju in sploh o vsem, če si lahko sposodim Douglasa Adamsa, enega najbolj navihanih avtorjev.

dr. Petra Slanc Može

Prof. dr. Borut Štrukelj je zelo uspešno vodil uredniško politiko Farmaceutskega vestnika več kot 25 let. V času svo-

jega urednikovanja našega strokovnega glasila je uspešno združeval želje in ideje bralstva – posebej povezovanja med dvema vizijama vsebine in poslanstva revije. V farmacevtski stroki je bila na eni strani stalno bolj ali manj prisotna želja po nadgradnji Farmaceutskega vestnika v mednarodno znanstveno revijo, ki bi se uvrstila med revije s faktorjem citiranosti, in na drugi strani želja po še bolj aktualiziranih strokovnih vsebinah, ki bi bile namenjene strokovni rasti bralcev, posebej z lekarniškega področja – torej še večji poudarek na strokovnih in družabnih vsebinah. Prof. Štrukelj je s svojo povezovalnostjo in komunikacijskimi sposobnostmi zagotovil, da je revija ohranila svoj povezovalni status in široko branost pri najširšem delu članov SFD.

prof. dr. Franc Vrečer

Le malo ljudi se zaveda, kako odgovorno in težko je delo urednika znanstveno-strokovne revije, ki želi stati in obstati v množici podobnih revij v svetu. To je še zlasti težko revijam majhnih narodov, z majhnim številom potencialnih piscev in tudi bralcev, kot je Slovenija. Sam se tega še posebej dobro zavedam, saj sem kot dolgoletni odgovorni urednik jugoslovanske znanstvene revije »Acta Pharmaceutica Yugoslavica« vzdrževal stik revije z mednarodnim znanstvenim svetom in s tem zagotavljal prodor jugoslovanskih znanstvenih del v zakladnico svetovne znanosti. Ni bilo lahko, ker je vsakokratni urednik pod dvojnimi pritiski. Po eni strani nanj pritiska izdajatelj revije za zahtevo po rednem izdajanju revije, po drugi pa populacija bralcev z željo po čim kakovostnejših člankih.

Prepričan sem, da se je s podobnimi problemi srečeval tudi prof. dr. Borut Štrukelj pri urejanju Farmaceutskega vestnika, saj le-ta izhaja za še manjšo populacijo bralcev in piscev prispevkov. Vendar je s svojo široko razgledanostjo in neizmerno požrtvovalnostjo vseh 25 let revijo vzdrževal in jo bogatil s svojimi prispevki in deli drugih vrhunskih strokovnjakov s področij farmacije, medicine in biologije. Tako je Farmaceutski vestnik prerastel nivo stanovske revije in se preoblikoval v strokovno-znanstveno revijo s področja farmacevtskih znanosti.

To preoblikovanje ni bilo lahko. Bralstvo Farmaceutskega vestnika je še vedno želelo, da jih Vestnik seznanja predvsem s praktičnimi novostmi iz sveta farmacije, in le manjši krog se je zavedal, kako pomembno je za razvoj farmacevtske znanstvene misli v Sloveniji izdajanje ustrezne znanstvene revije. V njej so lahko mladi slovenski razisko-

valci s področja farmacije objavljali rezultate svojega dela in se s tem vključevali v svetovne kroge raziskovalcev. Lahko so izmenjevali svoje ideje, Farmaceutski vestnik pa je lahko z izmenjavo revij drugih dežel bogatil svojo knjižnico znanstvene literature.

Prof. dr. Borut Štrukelj se je vseskozi zavedal pomembnosti poslanstva Farmaceutskega vestnika in je z veliko vnemo in požrtvovalnostjo spodbujal mlade raziskovalce za objavljanje svojih del v Vestniku. To mu je v veliki meri uspevalo in danes lahko rečemo, da je tudi prof. dr. Štrukelj in ne samo Farmaceutski vestnik odlično opravil svoje poslanstvo razvoja znanstvene misli na področju farmacije, za kar smo mu lahko zelo hvaležni.

prof. dr. Franc Kozjek

Kolega Borut se je odločil, da – vsaj formalno – sklene svojo uredniško pot v Farmaceutskem vestniku, ki jo je zelo uspešno opravljal z njemu lastno predanostjo in zavzetostjo. Kolego Boruta vsi poznamo kot vrhunskega znanstvenika in izjemnega predavatelja, kar se seveda zrcali tudi v njegovih uvodnikih: veliko ve in to zna tudi povedati in zapisati. Je pa njegovo uredniško delo vedno odražalo še eno prepoznavno značilnost: kolega Borut je neutrudni zagovornik farmacevtske stroke in znanosti v polnem pomenu besede. Zlasti ob nedavni epidemiji covida smo se lahko vsi prepričali, kako hitro in vztrajno se širijo nekritičnosti, polresnice in neresnice in kako zlahka najdejo plodna tla. Boruta krasi tudi pogum: ob vsakem tovrstnem dogajanju se je oglasil in jasno posredoval strokovna stališča. Tudi ko je bilo neprijetno in zelo neprijetno. Prepričan sem, da bo s tem nadaljeval tudi po zaključku uredniškega dela.

dr. Gašper Marc

Delovanje prof. dr. Boruta Štruklja kot odgovornega urednika Farmaceutskega vestnika sem spoznal kot član uredniškega odbora, še preden sem prevzel vodenje SFD, zato sem bil vsa leta predsedovanja društvu povsem miren glede našega glasila. Ne samo zaradi znanstveno-razisko-

valne in strokovne odličnosti odgovornega urednika in vseh, ki so sodelovali pri nastajanju posameznih števil, temveč tudi zato, ker sem vedel, da se Borut ne bo umaknil, če bo priletela kakšna puščica. Vedno je nastavil hrbet in zastavil svoje ime, ko je bilo treba braniti avtonomnost uredniške politike, potihoma, v ozadju, brez pompa in nepotrebnega vznemirjenja. In takšni so bili tudi sestanki uredniškega odbora. Ne glede na vsebino so potekali v prijetnem, konstruktivnem vzdušju, ki je bilo večkrat začinjeno z Borutovim neusahljivim humorjem.

mag. Matjaž Tuš

Dragi Borut,

kot glavna urednica Farmaceutskega vestnika sem imela prijetno dolžnost, da kot prva preberem, kako tvoje dolgoletno delo odgovornega urednika vidijo tvoji cenjeni kolegi. Dobra volja, sproščenost, tvoj značilen humor, neizmerna energija, razgledanost, prodornost in inovativnost, izjemna retorika ... To niso več le zaželenne vrline, temveč osebnostne in profesionalne lastnosti znanstvenika, predavatelja in nenazadnje preprostega človeka, ki v današnjem svetu žal postajajo ideal.

Zato sem ponosna na več kot deset let, v katerih sva skupaj ustvarjala Farmaceutski vestnik. Čeprav pogosto ni bilo enostavno, se danes z nasmehom spominjam dolgih dnevo in noči vztrajnega iskanja recenzentov, urejanja in pregledovanja člankov ... vse do trenutka, ko je minuto čez rok prišel tvoj težko pričakovani uvodnik s prisrčnim pripisom: »Nina, prosim, malo ga še »popeglaj« in popravi vejice.«






Naj ta droben, hudomušen pogled v zakulisje nastajanja Farmaceutskega vestnika zaključim z iskreno zahvalo, Borut, za vse, kar si (in še boš) prispeval slovenski farmacevtski stroki.

*izr. prof. dr. Nina Kočevar Glavač,
glavna urednica Farmaceutskega vestnika*





NAPOVEDNIK DOGODKOV SFD

STROKOVNI DOGODKI

-  **Simpozij Sekcije za zgodovino farmacije pri SFD**
Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 19. september 2024
ZGODOVINSKE ZBIRKE, ARHIVSKO GRADIVO in AKTUALNA PROBLEMATIKA NA PODROČJU ZGODOVINE FARMACIJE
-  **20. dan slovenskih lekarn**
26. september 2024
TARČNA ZDRAVILA
-  **Simpozij Sekcije farmacevtov javnih lekarn pri SFD**
Domus Medica, Ljubljana, 15. oktober 2024
PALIATIVNA OSKRBA
-  **16. mednarodni simpozij Sekcije bolnišničnih farmacevtov pri SFD**
Domus Medica, Ljubljana, 5. november 2024
USPEŠEN ZDRAVSTVENI SISTEM IN PODOBNA BIOLOŠKA ZDRAVILA: ALI OBSTAJA POVEZAVA?
-  **Jesenski simpozij Homeopatske sekcije pri SFD**
Kemofarmacija, Ljubljana, 16. november 2024
HOMEOPATIJA IN REVMAATOLOGIJA
Integrativna homeopatija za trajnostno prihodnost

DRUŽABNI DOGODKI

-  FarmaHribi, 14. september 2024
-  FarmaJesen – Plesni večer SFD v Festivalni dvorani, 19. oktober 2024

Za več informacij in prijavo na dogodke spremljajte spletno stran **www.sfd.si**!



Gorenjska podružnica Slovenskega farmacevtskega društva
vas v sklopu projekta



 v **soboto, 14. septembra 2024**, vabi, da se jim
pridružite na planinskem pohodu na relaciji

Medvedova konta na Pokljuki - Blejska koča na Lipanci - Debela peč

Zasledujte podrobnosti, da vam ne pobegnejo.



V PRIMERU SLABEGA VREMENA POHOD ODPADE.

sponzor dogodka:

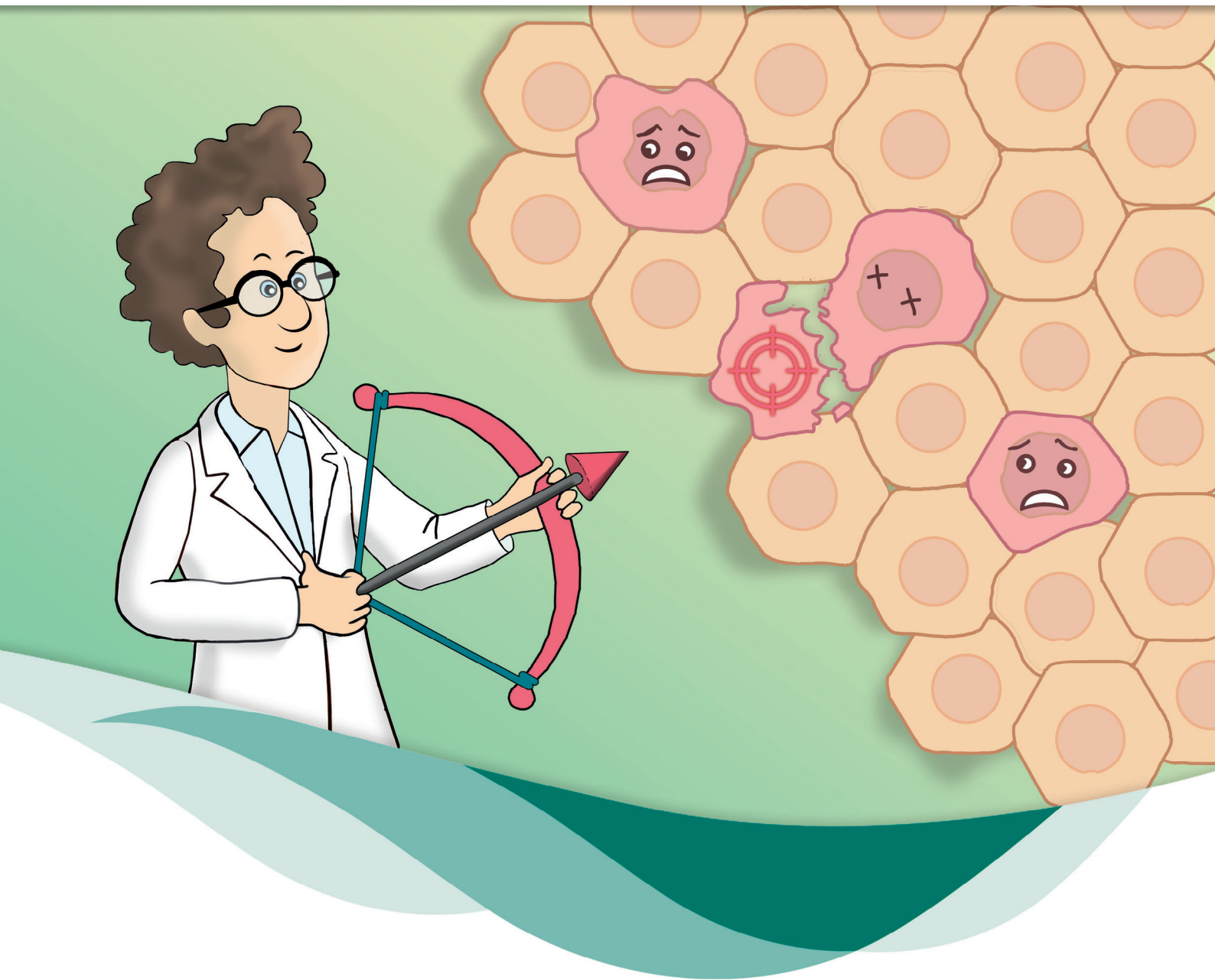


20.

dan slovenskih lekarn
26. september 2024



LEKARNIŠKA
ZBORNICA
SLOVENIJE



O PRAVILNI IN VARNI UPORABI ZDRAVIL
TARČNA ZDRAVILA



SLOVENSKO FARMACEVTSKO DRUŠTVO
SEKCIJA FARMACEVTOV JAVNIH LEKARN



SLOVENSKO FARMACEVTSKO DRUŠTVO
SLOVENIAN PHARMACEUTICAL SOCIETY

VABIMO VAS
na FarmaJesen –
Plesni večer SFD

Rezervirajte si soboto,
19. oktobra 2024
za prijetno plesno druženje
v Festivalni dvorani v Ljubljani.

Pridite v paru ali sami,
plesali bomo v vsakem primeru
in v vsakem vremenu.



Prinašamo zdravje

Zdravje in dobro počutje ljudi sta za nas na prvem mestu. Kot vodilna slovenska veletrgovina z zdravili, ki zagotavlja široko ponudbo izdelkov, smo zavezani, da svoje delo opravljamo zanesljivo, varno in učinkovito.

V vse, kar počnemo, vlagamo srčnost in predanost. Z nenehnim razvojem naših storitev gradimo zaupanje ter trdne partnerske odnose za bolj zdravo prihodnost.

www.kemofarmacija.si

 **KEMOFARMACIJA**
a PHOENIX company

