

# Liposomi u liječenju sideropenične anemije

---

**Baburić, Ana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:400355>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-24**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Ana Baburić**

# **Liposomi u liječenju sideropenične anemije**

## **DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019.

*Diplomski rad prijavljen je na kolegiju Oblikovanje lijekova i izrađen na Zavodu za farmaceutsku tehnologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod stručnim mentorstvom izv. prof. dr. sc. Željke Vanić.*

*Zahvaljujem se izv. prof. dr. sc. Željki Vanić na zalaganju, stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada i što mi je pružila tu čast da surađujem s tako izvrsnom znanstvenicom i divnom osobom.*

*Najviše se zahvaljujem svojoj obitelji na svojoj ljubavi, podršci i lijepim riječima koje su mi pružili tijekom cijelog studiranja jer bez njih ne bi bilo ni mog uspjeha.*

*Posebno hvala mom Josipu na svojoj ljubavi, potpori i bezgraničnom strpljenju kojima smo zajedno prošli još jednu stepenicu našeg života.*

*Hvala i mojim prijateljicama koje su mi uljepšale ovo studiranje i obogatile život za bezbroj prekrasnih uspomena.*

*„Scientia potestas est!“ F.Bacon*

# SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD .....  | 1  |
| 1.1. DEFINICIJA I PREVALENCIJA ANEMIJE.....  | 1  |
| 1.1.1. Podjela anemija .....   | 2  |
| 1.1.2. Simptomatologija anemije.....   | 4  |
| 1.2. SIDEROPENIČNA ANEMIJA.....  | 5  |
| 1.2.1. Apsorpcija i homeostaza željeza .....   | 5  |
| 1.2.2. Definicija i prevalencija sideropenične anemije .....                               | 6  |
| 1.2.3. Uzroci i rizične skupine deficita željeza.....                                      | 7  |
| 1.2.4. Dijagnoza sideropenične anemije.....  | 8  |
| 1.2.5. Klinička slika sideropenične anemije.....   | 9  |
| 1.2.6. Liječenje sideropenične anemije .....   | 9  |
| 1.3. LIPOSOMI KAO NOSAČI LIJEKOVA .....  | 12 |
| 1.3.1. Strukturna svojstva liposoma .....  | 12 |
| 1.3.2. Klasifikacija liposoma.....   | 13 |
| 1.3.3. Metode pripreme liposoma.....   | 15 |
| 1.3.4. Primjena liposoma i izazovi peroralne primjene .....                                | 17 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME .....   | 19 |
| 3. MATERIJALI I METODE .....   | 20 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA .....  | 21 |
| 4.1. LIPOSOMSKO ŽELJEZO: PRIPRAVA I NAČINI APSORPCIJE .....                                | 21 |
| 4.2. SUKROSOMIALNO <sup>®</sup> ŽELJEZO.....   | 22 |
| 4.2.1. Struktura Sukrosomialnog <sup>®</sup> željeza.....                                  | 22 |
| 4.2.2. Gastrozistencija i intestinalna apsorpcija Sukrosomialnog <sup>®</sup> željeza..... | 23 |
| 4.2.3. Bioraspoloživost Sukrosomialnog <sup>®</sup> željeza.....                           | 24 |
| 4.2.4. Homeostaza željeza i utjecaj na razine hepcidina .....                              | 25 |
| 4.3. PRIMJENA LIPOSOMSKOG ŽELJEZA .....  | 26 |
| 4.3.1. Trudnoća i žene reproduktivne dobi.....   | 26 |
| 4.3.2. Onkologija.....   | 29 |

|   |    |
|---|----|
| 4.3.3. Nefrologija .....                                    | 31 |
| 4.3.4. Gastroenterologija .....                             | 34 |
| 4.3.4.1. Upalne bolesti crijeva .....                       | 34 |
| 4.3.4.2. Autoimuni atrofični gastritis .....                | 35 |
| 4.3.4.3. Celijakija .....                                   | 37 |
| 4.3.4.4. Netolerancija glutena nevezana uz celijakiju ..... | 39 |
| 4.3.4.5. Barijatrijska kirurgija .....                      | 39 |
| 4.3.5. Kardiologija .....                                   | 40 |
| 4.3.6. Kirurgija .....                                      | 42 |
| 5. ZAKLJUČAK .....  | 43 |
| 6. LITERATURA .....   | 45 |
| 7. SAŽETAK .....  | 49 |
| 8. SUMMARY .....  | 50 |
| 9. PRILOZI .....  | 51 |

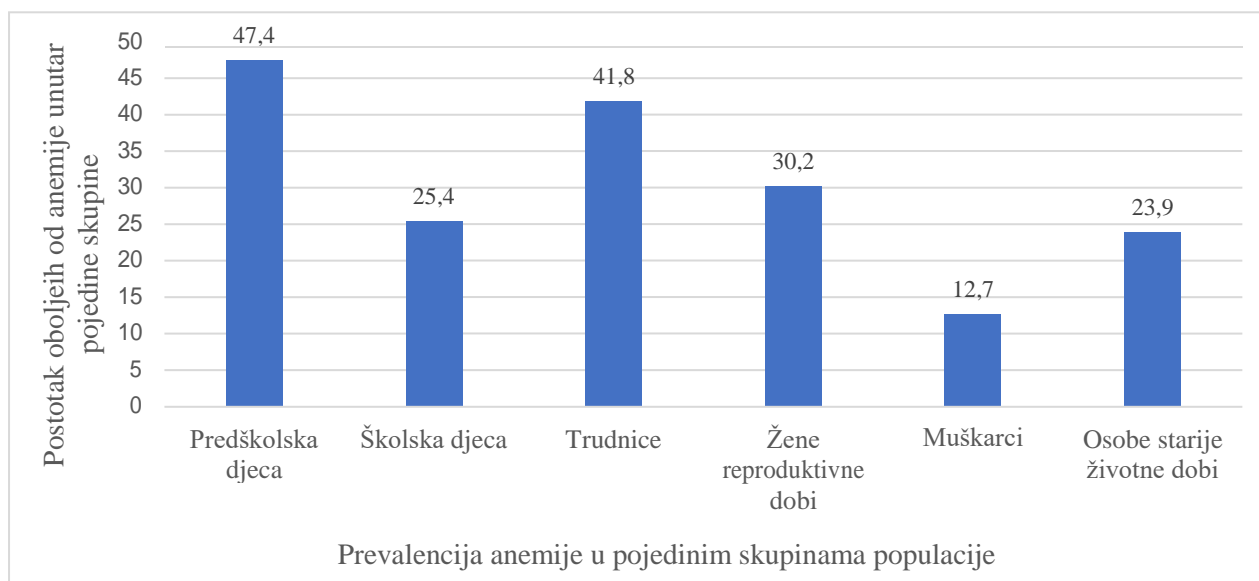
# 1. UVOD

## 1.1. DEFINICIJA I PREVALENCIJA ANEMIJE

Anemija je jedna od najčešćih bolesnih stanja u medicini, a definirana je kao stanje smanjenog broja eritrocita u perifernoj krvi. Ona može biti zasebna bolest ili što je češće, znak ili simptom brojnih stanja i bolesti. Manjak eritrocita i anemiju najbolje se može odrediti mjerenjem mase eritrocita pomoću izotopske metode razrjeđenja, ali s obzirom da je takav način određivanja vrlo skup, postoje praktičniji i jednostavniji postupci kao što su određivanje koncentracije hemoglobina, hematokrita i broja eritrocita. Hemoglobin je pigment koji služi kao glavni prenositelj kisika u krvi, a koncentracija mu se izražava u gramima na litru pune krvi (g/L). Referentni interval koncentracije hemoglobina u krvi za muškarce iznosi 138–175 g/L, a za žene 119–157 g/L. Hematokrit označava postotak volumena pune krvi koji zauzimaju eritrociti i referentni interval za muškarce iznosi 0,415–0,530 L/L, a za žene 0,356–0,470 L/L. Ukupni je broj eritrocita određen brojem eritrocita u jedinici pune krvi. Referentni interval broja eritrocita u krvi za muškarce iznosi  $4,34\text{--}5,72 \times 10^{12}$  /L, dok za žene iznosi  $3,86\text{--}5,08 \times 10^{12}$  /L. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO), anemija je određena koncentracijom hemoglobina u krvi. U muškaraca, anemija se javlja kada je koncentracija hemoglobina <130 g/L, a u žena <120 g/L (Labar i sur., 2007).

Koncentracija svih triju mjernih parametara crvene krvne slike ovisi o odnosu eritrocitne mase i plazme, što znači da će im vrijednosti biti niže ako je eritrocitna masa smanjena u odnosu prema plazmi ili ako je plazma povećana s obzirom na eritrocitnu masu. Primjerice, u trudnica se eritrocitna masa poveća za otprilike 25%, a plazma za oko 50%, što za posljedicu ima smanjenje koncentracije hemoglobina, razine hematokrita i broja eritrocita, iako je apsolutna masa eritrocita povećana (Labar i sur., 2007).

Anemija je veliki globalni problem koji zahvaća i razvijene i nerazvijene zemlje svijeta. Prema posljednjim podacima SZO-a, najveća prevalencija anemije je u afričkim zemljama (47,5–67,6%), dok najveći broj ljudi boluje od anemije u zemljama južnoistočne Azije (291–340 milijuna ljudi). Ukupno gledajući, 1,62 milijarde ljudi (24,8% ukupne svjetske populacije) boluje od nekog oblika anemije. Najčešće pogođene skupine su predškolska djeca i trudnice (Slika 1). Podaci za Hrvatsku pokazuju da 23,4% predškolske djece, 28,4% trudnica i 17,5% žena reproduktivne dobi boluje od anemije (De Benoist i sur., 2008).



**Slika 1.** Grafički prikaz prevalencije anemije u određenim skupinama svjetske populacije. Prilagođeno prema De Benoist i sur. (2008).

### 1.1.1. Podjela anemija

Dva su temeljna pristupa u dijagnostici anemija. Prvi nastoji utvrditi mehanizam koji je doveo do anemije, a drugi dijeli anemije s obzirom na veličinu srednjeg volumena eritrocita (engl. *mean corpuscular volume*, MCV) i retikulocitnog odgovora (Labar i sur., 2007).

Anemija se može pojaviti zbog jednog od triju neovisnih mehanizama:

- a) smanjenog stvaranja eritrocita,
- b) ubrzanog propadanja eritrocita i
- c) povećanog gubitka eritrocita.

#### Smanjenje stvaranja eritrocita

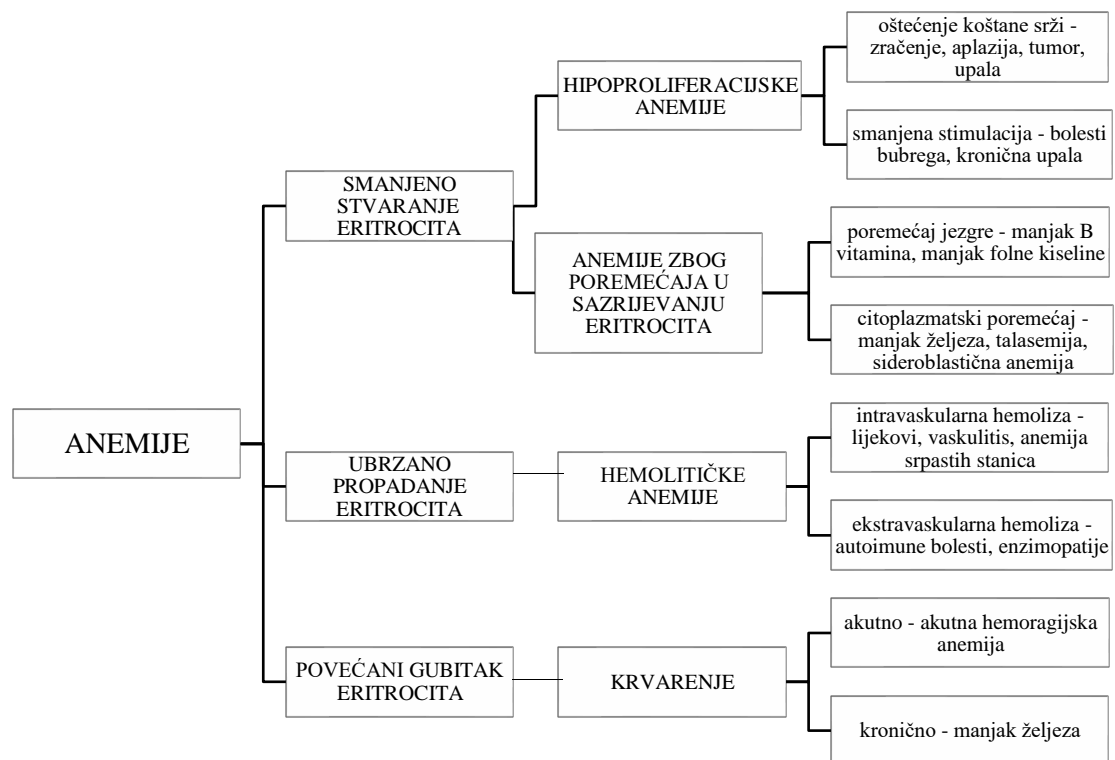
Tijekom 24 sata u normalnim bazalnim uvjetima, 1% ukupne mase eritrocita propada i zamjenjuje se novostvorenima iz koštane srži. Anemija će se pojaviti ako koštana srž ne stvori potrebnu količinu eritrocita. Smanjeno stvaranje eritrocita posljedica je hipoproliferacijske anemije, bilo zbog primarne bolesti koštane srži (npr. aplastična anemija, izolirana aplazija crvene loze, infiltracija tumorom) ili zbog niske razine trofičkih hormona koji stimuliraju stvaranje eritrocita (npr. niske razine eritropoetina u kroničnom bubrežnom zatajenju). Smanjeno stvaranje eritrocita nastaje i zbog poremećaja u sazrijevanju koji nastaju kao posljedica nedostatka vitamina B<sub>12</sub>, folne kiseline i željeza (Labar i sur., 2007).

## Ubrzano propadanja eritrocita

Eritrociti u prosjeku žive 120 dana i život eritrocita koji je kraći od 100 dana upućuje na ubrzano propadanje ili hemolizu eritrocita. Anemija će se pojaviti u trenutku kada koštana srž više nije u mogućnosti nadomjestiti oko 5% eritrocitne mase na dan. U tom trenutku, duljina života eritrocita iznosi dvadesetak dana, a koštana srž maksimalno kompenzira hemolizu i stvara pet puta više eritrocita nego u bazalnim uvjetima (Labar i sur., 2007).

## Povećani gubitak eritrocita

Gubitak krvi, odnosno eritrocita, najčešći je oblik anemije. Krvarenje se može očitovati kao krvarenje zbog traume, obilno krvarenje iz gastrointestinalnog trakta te ginekološko krvarenje. Krvarenje može biti i ijtrogeno, npr. kod čestih venepunkcija za dijagnostičke pretrage, nakon opetovanih dijaliza ili prečestih darivanja krvi i krvnih pripravaka (Slika 2) (Labar i sur., 2007).



**Slika 2.** Podjela anemija prema mehanizmu nastanka. Prilagođeno iz Labar i sur. (2007).

Na temelju veličine eritrocita, anemije se mogu podijeliti u tri skupine: mikrocitne, normocitne i makrocitne (Tablica 1). MCV je mjera prosječnog obujma ili prosječne veličine eritrocita. Referentni interval MCV-a iznosi 83-97,2 femtolitara (fL). Eritrociti se mogu razlikovati po veličini, ali se to ne mora nužno odraziti na vrijednosti MCV-a. Primjerice,



anemija može biti posljedica dvaju uzroka te ako jedan od uzroka dovodi do mikrocitoze, a drugi do makrocitoze, MCV može biti normalan jer automatski brojači procjenjuju prosječnu veličinu stanica. Međutim, pregled razmaza periferne krvi će otkriti miješanu populaciju stanica (Labar i sur., 2007). Isto tako, u nekim stanjima može doći do pogrešaka pri mjerenju MCV-a (primjerice pri aglutinaciji eritrocita i značajnom povišenju broja leukocita). Lažno visoke vrijednosti MCV-a zbog hiperosmolalnosti plazme mogu se dobiti kod dijabetičke ketoacidoze pa je stoga važno napraviti razmaz periferne krvi ([www.placebo.hr](http://www.placebo.hr)).

**Tablica 1.** Podjela anemija prema veličini eritrocita. Prilagođeno iz Labar i sur. (2007).

| <b>Mikrocitna anemija<br/>MCV &lt;80 fL</b>  | <b>Normocitna anemija<br/>MCV 80-100 fL</b>  | <b>Makrocitna anemija<br/>MCV &gt;100 fL</b>  |
|--|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- sideropenična anemija</li> <li style="padding-left: 20px;">- talasemija</li> <li>- anemija kroničnih bolesti<br/>(kasna faza)</li> <li>- sideroplastična anemija<br/>(olovo, alkohol)</li> <li>- deficit bakra, otrovanje<br/>cinkom</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- akutni gubitak krvi</li> <li>- sideropenična anemija (rana<br/>faza bolesti)</li> <li>- supresija koštane srži</li> <li>- aplastična anemija</li> <li>- kronično zatajenje bubrega</li> <li>- endokrinološki poremećaji<br/>(npr. hipotireoza)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- intoksikacija etanolom</li> <li>- deficit folne kiseline</li> <li>- deficit vitamina B<sub>12</sub></li> <li>- lijekovima uzrokovana<br/>anemija (npr. citostatici)</li> <li style="padding-left: 20px;">- jetrene bolesti</li> <li>- akutne mijeloične leukemije</li> </ul> |

### 1.1.2. Simptomatologija anemije

Kliničke tegobe pretežno ovise o brzini nastanka anemije. Brzoprogredirajuće anemije pokazuju više simptoma od kroničnih, sporoprogredirajućih jer je manje vremena za adaptaciju na anemiju. U bolesnika s blagom anemijom obično nema nikakvih simptoma, a tek kada koncentracija hemoglobina u krvi padne ispod 90 g/L, zapaze se tipični simptomi anemije: nedostatak zraka, umor, pospanost, lupanje srca, glavobolja, gubitak koncentracije, itd. Zbog anemije, srce povećava minutni volumen na račun porasta frekvencije i manjeg udarnog volumena. U anemiji raste i koncentracija 2,3-bisfosfoglicerata u eritrocitima pa se stoga disocijacijska krivulja hemoglobina za kisik pomiče udesno, tako da se kisik brže i lakše otpušta iz hemoglobina (Labar i sur., 2007).

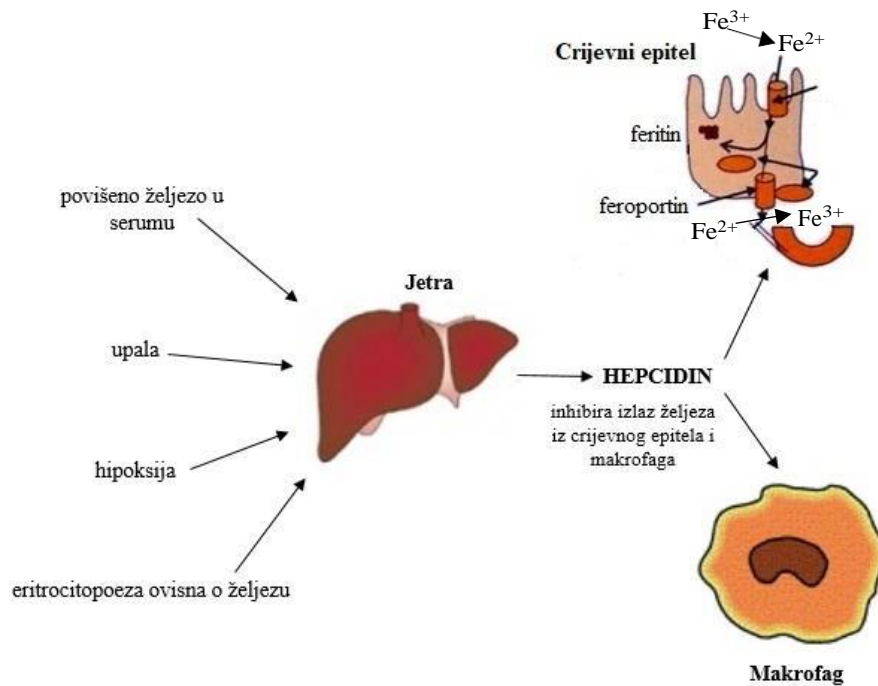
## 1.2. SIDEROPENIČNA ANEMIJA

### 1.2.1. Apsorpcija i homeostaza željeza

Željezo je važan element ljudskog organizma, iako ga ima relativno malo u usporedbi s drugim elementima (4–5 g). Oko dvije trećine željeza nalazi se vezano u hemoglobinu, trećina u rezervama (jetra, slezena, koštana srž), manji dio (4%) u mišićima gdje sudjeluje u izgradnji mioglobina, a ostatak željeza nalazi se u raznim enzimima (npr. katalaze, peroksidaze i dr.). Organizam ne stvara željezo pa se ono unosi prehranom i ako ga u prehrani nema dovoljno, razvija se manjak željeza ili sideropenija. Hrana uglavnom sadrži željezo u trovalentnom obliku koji se ne može apsorbirati, već se najprije mora reducirati u dvovalentni oblik. Redukcija željeza se odvija u početnom dijelu tankog crijeva, dvanaesniku, pomoću enzima citokrom-d-ferireduktaza (engl. *duodenum cytochrome-d*, DCYTD). Tako nastalo dvovalentno željezo se prenosi kroz membranu pomoću dvovalentnog metalnog transportera (DMT1). DMT1 nije specifičan samo za prijenos željeza, već i drugih dvovalentnih oblika elemenata, kao npr. mangana, bakra, olova i cinka. Dio dvovalentnog željeza u epitelnim stanicama crijeva odlaže se u rezerve u obliku feritina, a veći se dio prenosi citoplazmom od apikalnog do bazalnog dijela membrane pomoću prijenosnika feroportina-1 (engl. *iron-regulated transporter 1*, IREG1). IREG1 usko je povezan s hefestinom, oksidazom koja oksidira dvovalentno u trovalentno željezo jer se samo ono može vezati za transferin koji djeluje kao glavni prijenosnik željeza u organizmu. Transferin omogućuje unos željeza u stanice tako da se veže za transferinske receptore (Labar i sur., 2007).

Homeostaza željeza precizno je regulirana na razini stanica i tkiva te se tako osigurava potrebna količina željeza za funkciju stanica i tkiva, a sprječava se povećano opterećenje željezom. Apsorpcija željeza u početnom dijelu tankog crijeva regulirana je s četiri mehanizma koji određuju brzinu apsorpcije. Prvi regulator je regulator rezervi koji može za nekoliko puta povećati apsorpciju željeza kada ono manjka u rezervama ili je smanjiti kod povećanih količina željeza u organizmu. Eritroidni regulator povećava apsorpciju željeza ako nedostaje željeza za eritrocitopoezu ili u slučaju ubrzanog stvaranja prethodnih nezrelih eritroidnih stanica. Hipoksija kao regulator vjerojatno povećava resorpciju željeza mehanizmom povećanog stvaranja hemoglobina koji veže i prenosi kisik. Upalni regulator smanjuje apsorpciju željeza kao odgovor na upalni proces brojnih bolesti. Sva četiri navedena mehanizma regulacije djeluju preko hepcidina koji neposredno kontrolira apsorpciju željeza.

Hepcidin djeluje kao negativni regulator jer blokira apsorpciju željeza u crijevima i blokira otpuštanje željeza iz makrofaga (Slika 3) (Labar i sur., 2007).



**Slika 3.** Mehanizmi regulacije homeostaze željeza. Prilagođeno iz Čulić i sur. (2006).

### 1.2.2. Definicija i prevalencija sideropenične anemije

Sideropenična anemija nastaje kao posljedica manjka željeza u organizmu i najrašireniji je nutritivni deficit u svijetu. Udio stanovništva koji boluje od sideropenične anemije veći je u industrijski nerazvijenim zemljama. Sideropenična anemija najčešći je oblik anemije i u 50% anemičnih pacijenata, radi se o sideropeničnoj anemiji (Labar i sur., 2007).

Sideropenična anemija razvija se postupno i pokazuje kronični tijek. Početni manjak željeza nadoknađuje se iz rezervi koje se prazne i organizam reagira povećanim stvaranjem transferina. U toj prvoj fazi, tzv. latentne sideropenije, koncentracija željeza u serumu je u granicama normale, razine transferina su povišene, a feritina snižene. Daljnjom progresijom nastaje faza manifestne sideropenije kada su rezerve željeza potpuno iscrpljene i razina serumskog željeza je snižena. Vrlo brzo nakon toga nastupa sideropenična anemija. U ranoj fazi, sideropenična anemija pokazuje sliku normocitne, normokromne anemije, a daljnjom progresijom prelazi u mikrocitnu, hipokromnu anemiju (Labar i sur., 2007).

### 1.2.3. Uzroci i rizične skupine deficita željeza

Deficit željeza nastaje uslijed nedovoljnog unosa u organizam ili prekomjernog gubitka iz organizma. Uzroci nedovoljnog unosa željeza su neodgovarajuća prehrana ili malapsorpcija, a uzroci prekomjernog gubitka kronično krvarenje, trudnoća i dojenje te infestacija parazitima (Čulić i sur., 2006).

Apsorpcija željeza iz hrane je složena i nepotpuna. Hem željezo nalazimo u mesu i ribi i ono se apsorbira daleko lakše od ne-hem željeza kojeg primarno nalazimo u voću, povrću, suhim grahoricama i orasima. Otprilike 10–20% željeza se apsorbira iz mesa, za razliku od 1–2% željeza koje se apsorbira iz voća i povrća. Brojni čimbenici dodatno pogoršavaju apsorpciju željeza, kao npr. kava, crni čaj, kalcij i fosfor iz mlijeka te vlakna, za razliku od vitamina C koji značajno pojačava apsorpciju željeza. Najčešći uzroci malapsorpcije željeza su upalne bolesti crijeva i operativni zahvati u kojima se mijenja normalni tijek probavnog trakta. Nadalje, brojni lijekovi (npr. antacidi, tetraciklini) mogu stupati u interakciju sa željezom i tako smanjiti njegovu apsorpciju. Jedan ml eritrocita sadrži jedan mg željeza. Gubitak 1 ml krvi, ovisno o hematokritu, dovodi do gubitka 0,3 do 0,5 mg željeza. Budući da je dnevni gubitak željeza u osobe koja ne krvari 1 mg dnevno, dnevni gubitak od 2-3 ml krvi podvostručuje potrebe organizma za željezom. Drugi po učestalosti uzrok sideropenične anemije je krvarenje iz probavnog trakta (npr. ulkusi u gastrointestinalnom traktu, hemoroidi) (Čulić i sur., 2006).

Rizici pojave sideropenične anemije povezani su s obilježjima pojedinca te ekološkim i socijalnim uvjetima njegove okoline kao što su dob, spol, fiziološka stanja, patološka stanja i socioekonomski status. Primjerice, rizik nastanka sideropenične anemije povećan je u vrijeme intenzivnog rasta i razvoja. Zdrava djeca rođena na vrijeme imaju dovoljno željeza pohranjenog u jetri i hematopoetskim organima i koje je, u dojene djece, dovoljno u prvim mjesecima života. U djece koja se hrane samo majčinim mlijekom, manjak željeza se počinje javljati oko šestog mjeseca života. Prerano rođena djeca, blizanci, djeca niske porođajne mase i djeca sideropeničnih majki trebaju ranije započeti sa suplementacijom željeza. Potrebe za željezom proporcionalne su brzini rasta djeteta pa se manjak željeza često javlja u predškolskoj dobi i tijekom adolescencije. Manjak željeza se može javiti i u osoba starije životne dobi kao posljedica nekvalitetne prehrane, smanjene apsorpcije i krvarenja iz probavnog sustava (Čulić i sur., 2006).

Žene reproduktivne dobi imaju veći rizik pojave sideropenične anemije, najčešće zbog povećanih potreba za vrijeme trudnoće ili obilnih mjesečnih krvarenja. Potrebe za željezom rastu tijekom trudnoće jer se značajne količine željeza pohranjuju u placenti i plodu pa je ukupna potreba za željezom povećana za 700–850 mg. Tijekom dojenja, željezo se pojačano gubi izlučivanjem u majčino mlijeko. Infekcije, osobito kronične, mogu uzrokovati sideropeničnu anemiju (npr. malarija, infestacije parazitima). Nadalje, i ulkusi u gastrointestinalnom traktu, upotreba nekih lijekova (npr. NSAR) te karcinomi povećavaju rizik nastanka sideropenije (Čulić i sur., 2006).

Nedostatak željeza najveći je u najsiromašnijim zemljama svijeta u kojima prehrana populacije ne osigurava potrebne količine željeza. Povezanost socioekonomskog statusa i anemije uočava se i u razvijenim zemljama gdje se npr. u nedovoljno educiranim skupinama prerano uvodi kravlje mlijeko u prehranu djece pa dolazi do pojave sideropenične anemije (Čulić i sur., 2006).

#### **1.2.4. Dijagnoza sideropenične anemije**

Za postavljanje dijagnoze sideropenične anemije potrebno je odrediti kompletnu krvnu sliku, a najvažnijim parametrima se smatraju željezo u serumu i kapacitet vezanja željeza za transferin (engl. *total iron binding capacity*, TIBC). Referentni interval koncentracija željeza u serumu za muškarce iznosi 13–27  $\mu\text{mol/L}$ , a za žene 11–25  $\mu\text{mol/L}$ , dok referentni interval TIBC-a za muškarce iznosi 49–72  $\mu\text{mol/L}$ , a za žene 49–75  $\mu\text{mol/L}$ . Tipično se u sideropeničnoj anemiji javlja smanjen broj eritrocita, smanjene razine hematokrita i koncentracije hemoglobina, karakteristične morfološke promjene eritrocita – mikrocitoza i hipokromnija, snižena koncentracija željeza u serumu, povišene vrijednosti nezasićenog kapaciteta vezanja željeza (engl. *unsaturated iron binding capacity*, UIBC) i/ili TIBC-a (Labar i sur., 2007).

Nedostatak željeza može se odrediti i mjerenjem transferinskih receptora (TfR) u serumu. TfR su porijeklom iz eritroidnih prethodnih stanica koštane srži i dobar su kvantitativni pokazatelj ukupne eritrocitopoeze. Njihova je koncentracija u serumu izravno proporcionalna veličini eritrocitopoeze, a obrnuto proporcionalna sadržaju željeza u rezervama. Stoga bolesnici sa smanjenim rezervama željeza imaju povećan broj transferinskih receptora u serumu (Labar i sur., 2007).

Bolesnici s deficitom željeza nisu u mogućnosti biosintetizirati hem (željezo + protoporfirin IX) i u tim slučajevima se cink veže umjesto željeza za protoporfirin. Određivanjem cink–protoporfirina može se mjeriti manjak željeza, ali se ne može utvrditi uzrok deficita jer je cink–protoporfirin pokazatelj i anemije kroničnih bolesti gdje se željezo ne oslobađa iz svojih rezervi (Labar i sur., 2007).

### **1.2.5. Klinička slika sideropenične anemije**

Simptomi i znakovi sideropenične anemije mogu se podijeliti u tri skupine. Prvu čine simptomi i znakovi smanjene oksigenacije tkiva i organa poput umora, slabosti, zaduhe, nepodnošenja napora, bljedoće kože i sluznica. Drugu skupinu čine simptomi i znakovi reakcije organizma na nastali poremećaj, kao što su palpitacije, tahikardija, ubrzano disanje i funkcionalni šum nad aortom. U treću skupinu spadaju simptomi i znakovi uzrokovani deficitom željeza poput glavobolje, parestezije, žarenja u jeziku. Jačina simptoma slabo korelira s težinom sideropenične anemije. Osim klasičnih znakova, u bolesnika s deficitom željeza mogu se vidjeti promjene na jeziku, koji postaje gladak i crven, te stomatitis i angularni heilitis. Ako je sideropenična anemija teška i dugotrajna, može se javiti koilonihija (nokti postaju izbrazdani, tanki, konkavni i ispucali) (Čulić i sur., 2006).

### **1.2.6. Liječenje sideropenične anemije**

Liječenje sideropenične anemije ima za cilj suzbijanje anemije ubrzanom normalizacijom koncentracije hemoglobina u krvi (nekoliko tjedana terapije suplementacijom željeza), popunjavanje zaliha u organizmu (daljnjih 2–6 mjeseci terapije) i izbjegavanje neželjenih djelovanja terapije željezom. Željezo se može primijeniti peroralno i parenteralno. Peroralna primjena je najprimjerenija zbog jednostavnosti i učinkovitosti, dok je intravenska primjena zahtjevnija uz povećanu učestalost lokalnih i sistemskih nuspojava. Intramuskularna primjena se više ne primjenjuje jer je bolna i vezana uz moguće lokalne komplikacije (Brozović, 2018).

Pripravci za peroralnu primjenu mogu se podijeliti na one s ionskim željezom i organske komplekse željeza. Preporuča se koristiti pripravke dvovalentnog željeza jer se ono jedino dobro apsorbira, a izbjegavati pripravke s produljenim oslobađanjem (tzv. „retard“ pripravci) i one s trovalentnim željezom. Koliko će primijenjenog željeza bolesnik apsorbirati ovisi o

težini sideropenične anemije. Anemični bolesnici apsorbiraju obično 10% željeza, oni s teškom sideropeničnom anemijom i do 20%, a bolesnici s latentnom sideropenijom tek 5% ili manje. Uobičajena terapijska dnevna doza za odraslu osobu iznosi 100-200 mg elementarnog željeza, obično podijeljeno na 2–3 doze. Apsorpcija željeza iz peroralnih oblika je najbolja ako ih se uzima natašte. Veliki nedostatak peroralne terapije željeza su gastrointestinalne nuspojave koje se javljaju čak i kod više od 50% pacijenata pa je samim time i niža adherencija. Najčešće su to grčevi u trbuhu, dijareja, konstipacija, mučnina i tamna stolica. Nuspojave su tipično ovisne o dozi i može ih se ublažiti ili izbjeći primjenom manjih doza ili uzimanjem tableta neposredno nakon ili uz obrok (Čulić i sur., 2006).

Danas je dostupan velik broj dvovalentnih i trovalentnih oralnih pripravaka željeza koji se razlikuju u bioraspoloživosti, učinku, nuspojavama i cijeni, a najbitnije razlike navedene su u Tablici 2.

Indikacije za primjenu parenteralnog željeza su teška anemija (razine hemoglobina <100 g/L), nepodnošenje ili neučinkovitost peroralne terapije i malapsorpcija (Čulić i sur., 2006). Doza potrebnog intravenskog željeza računa se pojedinačno za svakog pacijenta prema formuli:

$$\text{deficit željeza (mg)} = [\text{tjelesna masa (kg)} \times 0,22 \times (\text{ciljni hemoglobin (g/L)} - \text{aktualni hemoglobin (g/L)})] + 1000 \text{ (za muškarce) ili } 500 \text{ (za žene)}$$

**Tablica 2.** Najvažnije karakteristike dvovalentnih i trovalentnih oralnih pripravaka željeza. Prilagođeno iz Santiago (2018), uz dozvolu *Hindawi Limited-a*.

| Pripravak željeza  | Karakteristike  |
|--|---|
| <p><b><u>Dvovalentno željezo</u></b></p> <p>željezov fumarat</p> <p>željezov glukonat</p> <p>željezov sulfat</p> <p>željezov glicin sulfat</p> | <p>- dobra bioraspoloživost</p> <p>- učinkovitost</p> <p>- niska cijena</p> <p>- visoka incidencija gastrointestinalnih nuspojava</p>                           |
| <p><b><u>Trovalentno željezo</u></b></p> <p>željezo proteinsukcinilat</p> <p>željezo polimaltoza kompleks</p>                                  | <p>- 3 – 4 x lošija bioraspoloživost</p> <p>- viša cijena</p> <p>- manja incidencija gastrointestinalnih nuspojava</p> <p>- potrebno češće i duže doziranje</p> |

Dostupni intravenski pripravci željeza razlikuju se u biokemijskim karakteristikama, nuspojavama i doziranju. Pripravci parenteralnog željeza su željezo-dekstran, željezo-glukonat, željezo-saharoza, željezo-karboksimaltoza, željezo-izomaltozid 1000 i ferumoksiteol. Novije formulacije parenteralnog željeza (željezo-karboksimaltoza i željezo-izomaltozid 1000) omogućavaju kraće vrijeme infuzije (15–60 min) i primjenu većih doza željeza (do 1000 mg tjedno). Međutim, veliki nedostatak intravenskih pripravaka željeza su moguće reakcije na mjestu injiciranja (npr. obojenje, bol, ekstravazacija), reakcije preosjetljivosti (npr. utrikarija, povišena tjelesna temperatura, tahikardija, šok, srčani ili respiratorni arrest) te visoka cijena (Gómez-Ramírez i sur., 2018).

U Tablici 3 sažete su najbitnije karakteristike oralnih i parenteralnih pripravaka željeza.

**Tablica 3.** Usporedba oralnih i parenteralnih pripravaka željeza. Prilagođeno iz Santiago (2018), uz dozvolu *Hindawi Limited-a*.

| <b>Karakteristike</b>          | <b>Oralna terapija</b>  | <b>Parenteralna terapija</b>   |
|--------------------------------|---|--|
| <b>intestinalna apsorpcija</b> | - narušena uz istovremenu primjenu hrane<br>- narušena uz istovremenu primjenu lijekova (lijekovi koji povisuju pH želuca)<br>- inhibirana zbog povišenih vrijednosti hepcidina | - izbjegnuta intestinalna apsorpcija   |
| <b>biorasploživost željeza</b> | - može biti nedovoljna tijekom terapije faktorima koji potiču eritrocitopoezu   | - uglavnom visoka  |
| <b>sigurnost</b>               | - česte gastrointestinalne nuspojave koje se najčešće javljaju tijekom primjene željezo-sulfata   | - dobar sigurnosni profil (rijetke anafilaktičke reakcije željezo-dekstrana i rijetke reakcije preosjetljivosti svih parenteralnih pripravaka) |
| <b>oksidativni stres</b>       | - može doći do zasićenja transportnog sustava željeza ako se željezo prebrzo oslobađa što onda rezultira pojavom oksidativnog stresa  | - primijećen samo kod pripravaka manje stabilnosti i kod kojih je željezo slabije vezano   |
| <b>adherencija</b>             | - narušena zbog češćih gastrointestinalnih nuspojava i doziranja (2–3 puta dnevno)  | - dobra, jer pripravke primjenjuju zdravstveni djelatnici  |
| <b>primjena</b>                | - primjena kod kuće   | - zahtijeva primjenu u ambulancama i klinikama   |
| <b>cijena</b>                  | - niska cijena  | - visoka cijena  |



Pacijenti s teškim oblikom sideropenične anemije, s alarmantnim simptomima (npr. hemodinamička neravnoteža) i/ili povećanim rizikom (npr. koronarna srčana bolest) mogu biti liječeni transfuzijom eritrocita. Transfuzija eritrocita dovodi do brzog, iako prolaznog porasta razine hemoglobina i posljedično tome, povećanjem sposobnosti prijenosa kisika. Očekuje se da jedna doza eritrocitnog pripravka (koncentrata) dovodi do povećanja razine hemoglobina za 1 g/L, odnosno povećanja razine hematokrita za 3% kod odraslog klinički stabilnog bolesnika. Kod pacijenata s teškom sideropeničnom anemijom, transfuzija eritrocita je privremeno rješenje te je potrebno utvrditi i liječiti primarni uzrok sideropenične anemije. Nakon postignuća hemodinamičke ravnoteže transfuzijom eritrocita, razmatra se uvođenje dodatne suplementacije željezom (ovisno o indikaciji, peroralna ili parenteralna terapija) ([http://www.zdravstvo-kvaliteta.org/dokumenti/radna\\_grupa\\_smjernice\\_transfuzije.pdf](http://www.zdravstvo-kvaliteta.org/dokumenti/radna_grupa_smjernice_transfuzije.pdf)).

### **1.3. LIPOSOMI KAO NOSAČI LIJEKOVA**

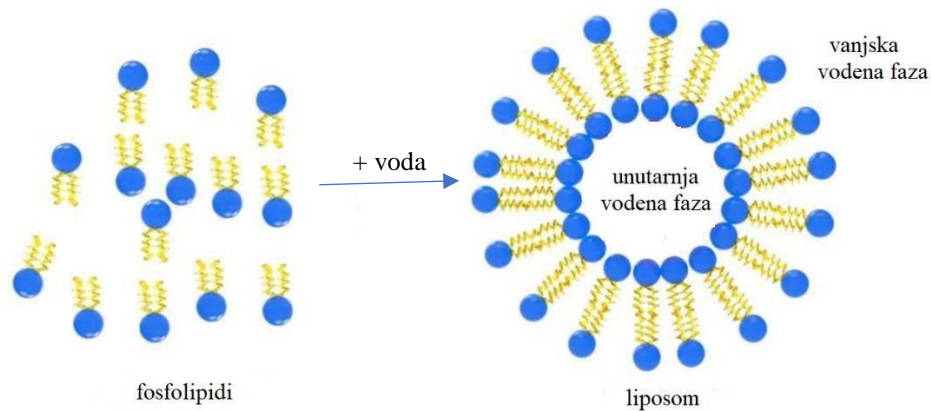
#### **1.3.1. Strukturna svojstva liposoma**

Liposomi su sferične fosfolipidne vezikule različite veličine (promjer varira od 20 nm do 10 µm) koje omogućavaju kontinuirano oslobađanje lijeka ili ciljano djelovanje lijeka na oboljelom mjestu u organizmu. Sastoje se od jednog ili više koncentrično položenih fosfolipidnih dvoslojeva koji odvajaju unutarnju od vanjske vodene faze. Zbog specifične građe, moguće je uklapanje hidrofilnih aktivnih tvari u unutarnju vodenu fazu, lipofilnih aktivnih tvari u fosfolipidni dvosloj i amfifilnih aktivnih tvari između vodene i lipidne regije. Nadalje, zbog svoje sličnosti s biološkim membranama, neimunogenosti i biorazgradljivosti, u potpunosti su fiziološki prihvatljivi što im osigurava primjenu u različitim terapijskim područjima (Vanić, 2012a).

Osnovne građevne jedinice liposoma su fosfolipidi koji su s jedne strane esterificirani derivatom sfingozina ili glicerola, a s druge kolinom, etanolaminom, serinom, inozitolom ili glicerolom.

U ovojnici liposoma, fosfolipifi su složeni u obliku dvosloja i orijentirani tako da su lipofilni dijelovi (tzv. „repovi“) molekula okrenuti jedan prema drugome, dok su hidrofilni dijelovi (tzv. „glave“) okrenuti prema vanjskoj i unutarnjoj vodenoj fazi (Slika 4). Ovojnica liposoma često sadrži kolesterol ugrađen u dvosloj između molekula fosfolipida i koji pridonosi rigidnosti (čvrstoći) fosfolipidnih molekula (Vanić, 2012a).

Ovisno o temperaturi, fosfolipidne membrane mogu postojati u visokoorganiziranoj čvrstoj fazi (gel faza) ili fazi tekućih kristala (sol faza). Temperatura na kojoj se odvija prijelaz iz gel faze u fazu tekućih kristala naziva se temperaturom faznog prijelaza (engl. *phase transition temperature*,  $T_p$ ).



**Slika 4.** Shematski prikaz formiranja liposoma. Prilagođeno iz Mozafari i sur., (2008), uz dozvolu *Taylor & Francis-a*.

Na  $T_p$  utječu brojni parametri, a posebno duljina i stupanj zasićenosti lanaca masnih kiselina u molekulama fosfolipida pa je ona viša kod većih duljina i većeg stupnja zasićenosti lanaca masnih kiselina. Fosfolipidi staničnih membrana imaju heterogeni sastav pa samim time i široku fazu prijelaza, za razliku od sintetskih koji imaju točno definiran sastav i usku  $T_p$  (Vanić, 2012a).

Vrlo je važno poznavati vrijednost  $T_p$  i fluidnost membrane jer fluidnost utječe na svojstva liposoma kao što su permeabilnost, fuzija, agregacija i vezanje na proteine plazme, što u konačnici regulira stabilnost liposoma i njihovo ponašanje u biološkim fluidima (Vanić, 2012a).

### 1.3.2. Klasifikacija liposoma

Liposomi se mogu klasificirati prema veličini i broju fosfolipidnih dvoslojeva te prema strukturnim svojstvima i načinu oslobađanja uklopljenog sadržaja. Prema veličini i broju fosfolipidnih dvoslojeva razlikujemo: unilamelarne oligolamelarne multilamelarne i multivezikularne liposome. Unilamelarni liposomi (engl. *unilamellar vesicles*, UV,) sadrže

jednu fosfolipidnu ovojnicu, a njihova podjela prema veličini prikazana je Tablicom 4 (Vanić, 2012a).

**Tablica 4.** Podjela unilamelarnih liposoma s obzirom na veličinu vezikula. Prilagođeno iz Vanić (2012a).

| <b>Vrsta unilamelarnih liposoma</b>                             | <b>Promjer liposoma (nm)</b> |
|---|------------------------------|
| mali (engl. <i>small unilamellar vesicles</i> , SUV)            | 20-100                       |
| srednje veliki (engl. <i>medium unilamellar vesicles</i> , MUV) | 100–500                      |
| veliki (engl. <i>large unilamellar vesicles</i> , LUV,)         | 500–1000                     |
| veoma veliki (engl. <i>giant unilamellar vesicles</i> , GUV)    | >1000                        |

Oligolamelarni liposomi (engl. *oligolamellar vesicles*, OLV) sadrže nekoliko koncentrično-položenih fosfolipidnih dvoslojeva između kojih se nalaze vodeni prostori, dok multilamelarni (engl. *multilamellar vesicles*, MLV) sadrže veliki broj koncentrično postavljenih fosfolipidnih dvoslojeva pri čemu volumen vodene faze može varirati. Multivezikularni liposomi (engl. *multivesicular liposome*, MVL) imaju nekoncentrično položene dvoslojeve koji oblikuju trodimenzionalnu mrežu komora što rezultira strukturom nalik na pjenu (Vanić, 2012a).

Prema drugom načinu klasifikacije, razlikuju se konvencionalni, sterički stabilizirani, imunoliposomi i polimorfni liposomi (Vanić, 2012a).

Konvencionalni liposomi sastoje se od fosfolipida (neutralnih ili kombinacije neutralnih s negativno nabijenim fosfolipidima ili kationskim lipidima) bez ili s prisutnim kolesterolom koji stabilizira fosfolipidni dvosloj. Oni mogu varirati u fizikalnim svojstvima poput veličine, površinskog naboja te fluidnosti membrane. Nespecifično su reaktivni prema okruženju u kojem se nalaze i nakon intravenske primjene kratko se zadržavaju u cirkulaciji. Akumuliraju se u stanicama retikuloendotelnog sustava i makrofagima pa se široko primjenjuju u liječenju infektivnih oboljenja, vakcinaciji i dijagnostici oboljenja organa u kojima se nakupljaju (jetra, slezena) (Vanić, 2012a).

U odnosu na konvencionalne liposome, sterički stabilizirani liposomi se dugo zadržavaju u cirkulaciji jer je površina liposoma zaštićena hidrofilnim polimerima vezanim na molekule

fosfolipida koji sprječavaju njihovo prepoznavanje od strane makrofaga i stanica retikuloendotelnog sustava. Upravo zbog te steričke stabilizacije, liposomi se dugo zadržavaju u cirkulaciji čime je omogućena isporuka uklopljenog lijeka na željeno mjesto djelovanja. Nakupljaju se na mjestima u tijelu gdje je povećana propusnost vaskularnog zida i mogu se koristiti u pasivnoj ciljanoj terapiji. Vrijeme polueliminacije tih liposoma je značajno povećano i može iznositi čak do 48 sati, za razliku od konvencionalnih liposoma (svega nekoliko sati) (Vanić, 2012a).

Imunoliposomi su konvencionalni ili dugo–cirkulirajući liposomi koji na svojoj površini imaju vezana specifična protutijela ili fragmente protutijela čime se omogućava njihovo prepoznavanje od strane odgovarajućih stanica (antigeni stanice) te time ciljano djelovanje na točno određenim mjestima u organizmu (aktivna ciljana terapija) (Vanić, 2012a).

Polimorfni liposomi su relativno novije generacije liposoma u koju spadaju pH–osjetljivi, temperaturno–osjetljivi i kationski liposomi. Kod njih je iskorišteno svojstvo lipidnog polimorfizma. Naime, različitim podražajima iz okruženja liposoma uzrokuju se promjene molekularnog oblika fosfolipida ili neke druge membranske komponente čime dolazi do promjene integriteta dvosloja i kontroliranog oslobađanja uklopljenog lijeka na željenom mjestu djelovanja (Vanić, 2012a).

### **1.3.3. Metode pripreme liposoma**

Odabirom odgovarajuće metode moguće je pripremiti liposome određene veličine, lamelarnosti i sadržaja uklopljenog lijeka. Optimalna metoda treba rezultirati liposomima s visokim sadržajem uklopljenog lijeka uz jednostavan i reproducibilan postupak pripreme.

Svi postupci pripreme liposoma uključuju uglavnom tri ili četiri osnovne faze:

- a) uklanjanje organskog otapala u kojem su otopljeni fosfolipidi,
- b) dispergiranje fosfolipida u vodenom mediju,
- c) homogenizaciju nastale fosfolipidne suspenzije i
- d) analizu konačnog produkta.

Za sve postupke pripreme vrijedi da se lipofilni lijekovi dodaju zajedno s fosfolipidima otopljenim u organskom otapalu, dok se hidrofilni lijekovi (djelatne tvari) dodaju otopljeni u vodenoj fazi (hidratacija fosfolipida).

S obzirom na način dispergiranja fosfolipida, metode pripreme liposoma se mogu podijeliti na postupke fizičkog dispergiranja, dvofaznog dispergiranja i solubilizacije pomoću detergensa (Vanić, 2012b).

U postupke fizičkog dispergiranja ubrajaju se: metoda hidratacije suhog fosfolipidnog sloja, metoda dehidratacije–rehidratacije i metoda smrzavanja–taljenja.

Metoda hidratacije suhog fosfolipidnog sloja (tzv. film metoda) temelji se na pripremi tankog fosfolipidnog sloja te dodatku vodenog medija uz snažno protresivanje. Postupak se provodi u okruglim tikvicama velikog volumena i nakon otparavanja organskog otapala na stijenkama tikvice zaostaje fosfolipidni film velike površine. Dodatkom vodenog medija dolazi do hidratacije fosfolipida i spontanog formiranja liposoma. Temperatura tijekom pripreme liposoma treba biti viša od temperature faznog prijelaza korištenih fosfolipida. Nastali liposomi su multilamelarne strukture i služe za uklapanje lipofilnih lijekova, a dodatkom negativno nabijenih fosfolipida dobivaju se MLV s većim unutarnjim vodenim prostorima koji služe za uklapanje hidrofilnih lijekova. Nastali liposomi su vrlo heterogene distribucije veličina pa se homogeniziraju ekstruzijom kroz polikarbonatne membrane određene veličine pora ili soniciranjem pri čemu se dobivaju homogene disperzije ULV i OLV liposoma (Vanić, 2012b).

Metoda dehidratacije–rehidratacije omogućuje visoko uklapanje hidrofilnih lijekova i osjetljivih bioloških molekula (npr. proteini, nukleinske kiseline). Načelo metode jest da se fosfolipidi izlažu visokim koncentracijama lijeka prije formiranja vezikula. Dobivaju se prazni MLV-i koji se soniciranjem prevode u SUV, potom se disperziji SUV–a dodaje otopina lijeka koji se želi uklopiti te se voda iz sustava uklanja liofilizacijom. Vezikule su tada u metastabilnom stanju s polarnim glavama fosfolipida orijentiranim prema molekulama lijeka. Zatim se kontroliranom rehidratacijom, tj. dodatkom 10x manje količine vode od izvornog volumena pripravka, potiče fuzija SUV–a i formiraju se oligo– ili multi-lamelarne vezikule s uklopljenim lijekom (Vanić, 2012b).

Metoda smrzavanja–taljenja temelji se na naglom smrzavanju smjese praznih SUV–a s otopinom lijeka te njezinom postupnom taljenju na sobnoj ili malo povišenoj temperaturi (20–30 °C). Pri naglom smrzavanju s tekućim dušikom dolazi do pucanja fosfolipidnih dvoslojeva i stvaranja pukotina kroz koje će lijek pri taljenju zbog visokog koncentracijskog gradijenta ući u unutarnju vodenu fazu liposoma. Novonastali LUV-i omogućavaju visoko uklapanje hidrofilnih lijekova (Vanić, 2012b).

Priprema liposoma dispergiranjem između dviju faza koje se međusobno ne miješaju temelji se na miješanju fosfolipida otopljenih u organskom otapalu s vodenim medijem u kojem može biti otopljena hidrofilna aktivna tvar te kontroliranim uklanjanjem organskog otapala iz sustava (Vanić, 2012b).

Priprava liposoma može biti posredovana detergensima koji solubilizacijom fosfolipida olakšavaju njihov kontakt s vodom. U trenutku kada koncentracija detergensa padne ispod kritične micelarne koncentracije, fosfolipidi spontano formiraju stabilne, zatvorene lamelarne strukture kako bi se minimalizirale neželjene interakcije hidrofobnih dijelova molekula fosfolipida s vodom. Metoda je prikladna za uklapanje lipofilnih aktivnih tvari i proteina, ali je postupak priprave relativno dugotrajan (Vanić, 2012b).

#### **1.3.4. Primjena liposoma i izazovi peroralne primjene**

Kao nosači lijekova liposomi su istraživani za različite puteve primjene (parenteralno, peroralno, nazalno, okularno i transdermalno). Usprkos velikim uspjesima postignutim u području parenteralne primjene liposoma, peroralna primjena liposoma predstavlja izazov. Najveći nedostaci peroralne primjene liposoma su u njihovoj nestabilnosti i razgradnji u gastrointestinalnom traktu, slaboj permeabilnosti kroz epitelne barijere i u troškovima proizvodnje. Konvencionalni liposomi u gastrointestinalnom traktu podliježu nepovoljnim utjecajima želučane kiseline, žučnih soli i pankreatičnih lipaza te dolazi do degradacije fosfolipidnih dvoslojeva i oslobađanja uklopljenog lijeka. To je posebno uočeno kod liposoma koji u svojoj strukturi imaju fosfolipide s  $T_p < 37\text{ }^\circ\text{C}$ , pa se zamjenom fosfolipida i kolesterola specifičnim lipidima ( $T_p > 37\text{ }^\circ\text{C}$ ) ili sterolima ta temperatura podiže čime se poboljšavaju fizička svojstva liposoma, prvenstveno stabilnost. Nadalje, studije su pokazale i da ugradnja žučnih soli u fosfolipidni dvosloj također potpomaže stabilizaciji liposoma. Iako točan mehanizam djelovanja žučnih soli nije razjašnjen, smatra se da štite liposome od razgradnje posredovane žučnim solima iz gastrointestinalnog trakta. Liposomi se mogu zaštititi od agresivnih utjecaja gastrointestinalnog trakta i dodatkom gastrozistentne polimerne ovojnice (npr. Eudragit L100, polisaharidi) (He i sur., 2019).

Konvencionalni liposomi su pokazali lošu permeabilnost kroz epitel gastrointestinalnog trakta zbog relativno velike veličine čestica i prisutnosti brojnih epitelnih barijera. Apsorpcija uklopljenog sadržaja iz liposoma se može poboljšati oblaganjem liposoma s mukoadhezivnim polimerima čime se produljuje zadržavanje liposoma u gastrointestinalnom traktu i interakcija

s epitelnim stanicama. Također, ugradnja žučnih soli u fosfolipidni dvosloj, dodatak polimerne ovojnice ili pojačivača apsorpcije poboljšava permeabilnost liposoma nakon peroralne primjene (He i sur., 2019).

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

Sideropenična anemija predstavlja veliki globalni problem koji zahvaća i razvijene i nerazvijene zemlje svijeta s prevalencijom od oko 25% (De Benoist, 2008). U konvencionalnoj peroralnoj terapiji apsorpcija željeza je niska što rezultira većom količinom neapsorbiranog željeza koji dovodi do neželjenih nuspojava u gastrointestinalnom sustavu. Osim nuspojava, dugotrajna peroralna terapija također rezultira smanjenom adherencijom pacijenata. S druge strane, parenteralna terapija se izbjegava zbog učestalih reakcija preosjetljivosti i nepodnošljivosti te odbojnosti pacijenata prema takvom putu primjene lijeka. Upravo iz tih razloga, formulirani su liposomski suplementi željeza namijenjeni peroralnoj terapiji sideropenične anemije koji su karakterizirani većom stabilnošću i apsorpcijom čime se smanjuje incidencija nuspojava i duljina trajanja terapije.

Ovaj rad donosi pregled istraživanja i kliničke primjene pripravaka željeza uklopljenih u liposome i namijenjenih liječenju sideropenične anemije. Prikazana su klinička ispitivanja primjene liposomskog željeza u trudnica, onkoloških, nefroloških, gastroenteroloških i kardioloških pacijenata te u pacijenata prije i nakon kirurških zahvata.



### **3. MATERIJALI I METODE**

U pisanju ovog diplomskog rada pretraživane su online baza podataka (*PubMed, Science Direct*), pregledana je dostupna znanstvena literatura i udžbenici u tiskanom i elektroničkom obliku te članci u stručnim časopisima. Literatura je pretraživana prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, autorima i časopisu te je proučavana analitički i kritički. Pri pretraživanju znanstvene literature traženi su odgovori na specifična pitanja vezana za problematiku ovog diplomskog rada i izdvojeni su značajniji rezultati istraživanja, rasprave i zaključci. Stručna i znanstvena literatura pretraživane su prema ključnim riječima kao što su liposomsko željezo, sukrosomialno željezo, sideropenična anemija, peroralna terapija anemije i liposomi.

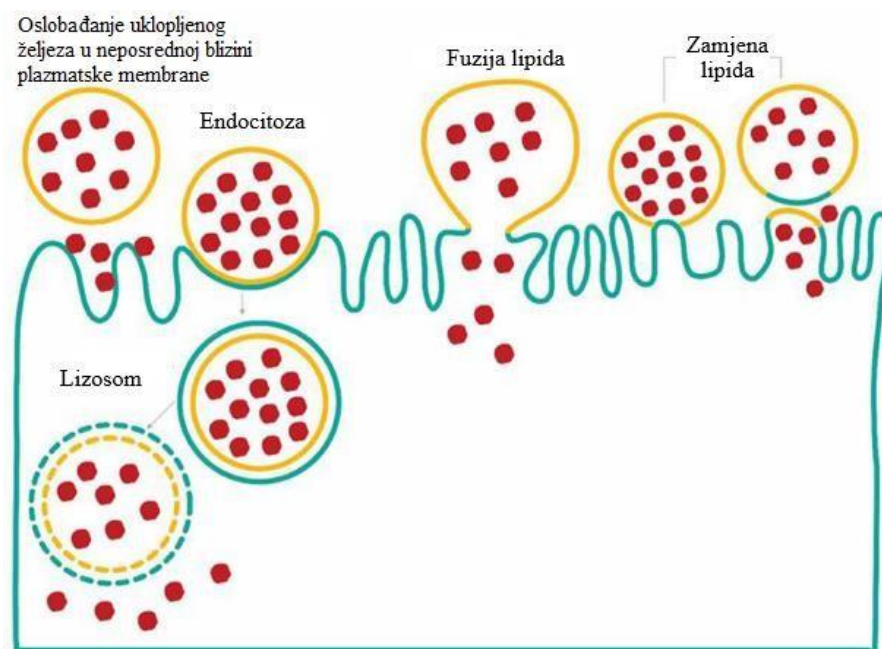
## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. LIPOSOMSKO ŽELJEZO: PRIPRAVA I NAČINI APSORPCIJE

Liposomi se zahvaljujući svojoj sličnosti s biološkim membranama i niskoj toksičnosti, primjenjuju kao nosači lijekova (djelatnih tvari) u dijagnostici i liječenju brojnih oboljenja. Konvencionalna terapija sideropenične anemije ima mnogo nedostataka zbog čega se razmatraju drugi pristupi liječenja sideropenične anemije. Uklapanje mikroniziranog oblika željeza u liposome rezultiralo je njegovom boljom apsorpcijom i bioraspoloživosti. Fosfolipidni dvosloj daje stabilnost i osigurava postepeno oslobađanje uklopljenog željeza čime se u konačnici poboljšava apsorpcija. Nadalje, s obzirom da nema direktnog kontakta željeza sa gastrointestinalnom sluznicom, smanjena je incidencija nuspojava i poboljšana je podnošljivost i suradljivost pacijenata (Biniwale i sur., 2018).

Priprava liposomskog željeza započinje mikronizacijom željeza čime se smanjuje veličina čestica željeza i povećava njegova topljivost. Budući da mikronizacijom nastaju sitne čestice velike specifične površine, povećava se apsorpcija što u konačnosti rezultira željenim farmakološkim učinkom. Mikronizirano željezo se uklapa u unutarnju vodenu fazu liposoma, a fosfolipidni dvosloj štiti uklopljeni sadržaj od agresivnih učinaka gastrointestinalnog sustava (Biniwale i sur., 2018).

Mogući načini apsorpcije liposomskog željeza prikazani su Slikom 5. Prema prvom prikazanom mehanizmu, liposomi s uklopljenim željezom se mogu adsorbirati na intestinalne membrane što rezultira povećanjem lokalne koncentracije željeza te njegovom apsorpcijom putem transportera ili jednostavnom difuzijom. Liposomsko se željezo može adsorbirati i endocitozom pri čemu se fosfolipidni dvosloj liposoma razgrađuje kao posljedica djelovanja unutarstaničnih lizosoma te se uklopljeni sadržaj (željezo) oslobađa u citoplazmu stanice. Također može doći i do fuzije fosfolipidnog dvosloja s plazmatskom membranom te otpuštanja uklopljenog sadržaja. Moguća je i izmjena lipida fosfolipidnog dvosloja s lipidima plazmatske membrane čime se narušava stabilnost liposoma i dolazi do otpuštanja uklopljenog sadržaja u stanicu. Liposomi se mogu i direktno adsorbirati, zaobilazeći konvencionalne puteve apsorpcije, preko M-stanica (engl. *microfold cells*) Peyerovih ploča koje adsorbirani sadržaj prenose do limfnog tkiva (Biniwale i sur., 2018).

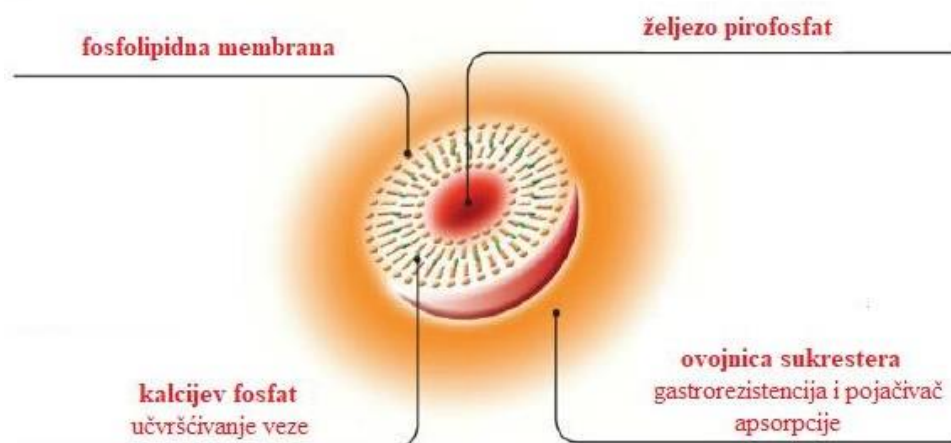


**Slika 5.** Mehanizmi apsorpcije liposomskog željeza. Prilagođeno iz Biniwale i sur. (2018), uz dozvolu *Scientific Research Publishing Inc.*-a.

## 4.2. SUKROSOMIALNO® ŽELJEZO

### 4.2.1. Struktura Sukrosomialnog® željeza

Sukrosomialno® željezo (engl. *Sucrosomial® Iron*, Alesco, Italija) predstavlja inovativni nosač željeza u kojem je željezo pirofosfat uklopljeno u liposome pripravljene iz suncokretovog lecitina, uz dodatak sukrestera. Sukrester je surfaktant dobiven esterifikacijom masnih kiselina saharozom. Novija istraživanja pokazuju da sukrester djeluje kao pospješivač apsorpcije zbog svoje sposobnosti smanjenja otpora intestinalnih barijera i olakšavanja prijenosa preko paracelularnih i transcelularnih puteva. Svojstva sukrestera, a posljedično i stabilnost liposoma, ovise o HLB–vrijednosti (engl. *hydrophile–lipophile balance*) sukrestera i duljini lanaca masnih kiselina. Sukrosomialno® željezo je dodatno stabilizirano dodatkom kalcijevog fosfata koji učvršćuje fosfolipide i škroba. Takva struktura (Slika 6) je odgovorna za gastrozistenciju Sukrosomialnog® željeza i prolazak kroz gastrointestinalni trakt bez nuspojava jer su izbjegnute interakcije željeza i intestinalne sluznice (Gómez-Ramírez i sur., 2018).



**Slika 6.** Shematski prikaz strukture Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza. Prilagođeno iz Gómez-Ramírez i sur. (2018), uz dozvolu *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*-a.

#### 4.2.2. Gastrozistencija i intestinalna apsorpcija Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza

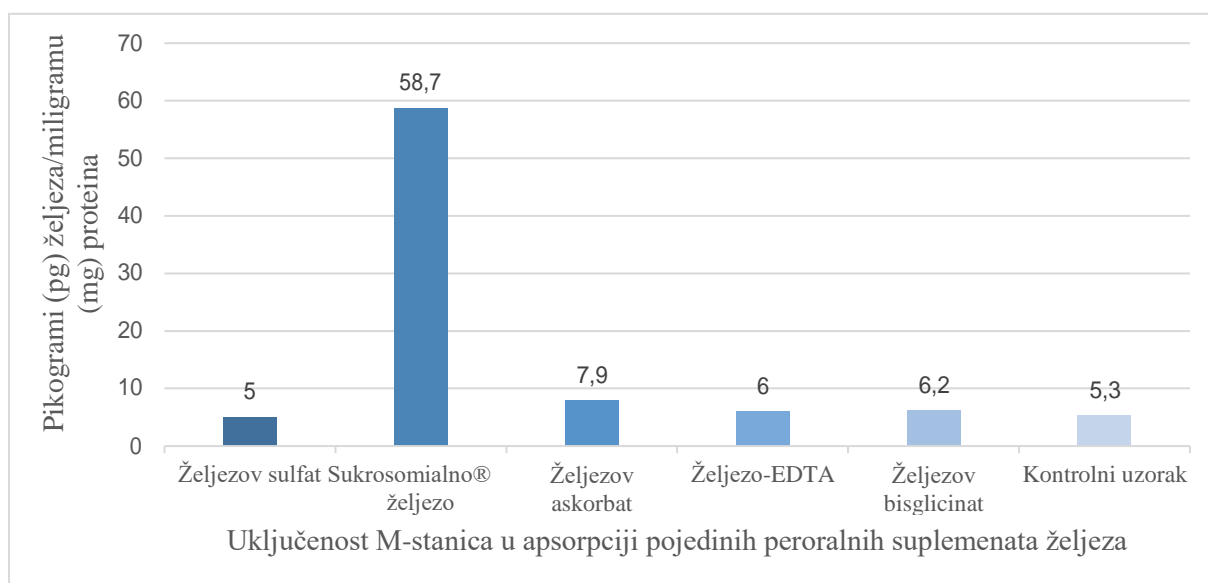
Prisutnost ovojnice sukrestera osigurava gastrozistentnost Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza. Brilli i sur. (2016) su ispitivali gastrozistentna svojstva Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza koristeći simulirane uvjete želučanog soka (pH=1,2). U vremenu od 30 do 120 minuta, oslobađanje trovalentnog željeza iz Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza oblika bilo je manje od 5%, za razliku od nezaštićenog oblika željeza gdje je oslobađanje bilo 75–85% (Gómez-Ramírez i sur., 2018).

Navedena gastrozistentna svojstva omogućavaju intaktnost Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza i dolazak do mjesta apsorpcije, tj. intestinalne sluznice. Provedene studije pokazuju mogućnost različitih puteva apsorpcije Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza. *Ex vivo* ispitivanja permeabilnosti, provedena na modelu crijeva štakora pokazuju da prisutnost sukrestera štiti trovalentni oblik željezo pirofosfata u Sukrosomialnom<sup>®</sup> željezu od enzimske razgradnje te osigurava apsorpciju kroz intestinalni epitel preko DMT–1 neovisnog puta. Sukrosomialno<sup>®</sup> se željezo apsorbira preko paracelularnih i transcelularnih puteva zahvaljujući fosfolipidnom dvosloju i sukresterskom matriksu (Fabiano i sur., 2018).

Fabiano i sur. (2018) su ispitivali uključenost M-stanica u apsorpciju Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza. M–stanice Peyerovih ploča sudjeluju u transportu čestica i mikroorganizama od luminalne strane crijeva do *lamine propriae*, gdje se onda prikazuju stanicama imunološkog sustava. Također, dokazano je da M–stanice imaju ulogu i u transportu peroralno

primijenjenih lijekova u obliku vezikula do limfatičkog sustava. Međutim, takav način transporta uvelike ovisi o fizikalno–kemijskim svojstvima čestica koje se prenose.

Moguća uloga M–stanica u transportu Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza ispitivana je *in vitro* na kulturama CACO-2/RajiB stanica. Eksperimentalni podaci dokazuju da prisutnost M–stanica povećava apsorpciju Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza, ali ne konvencionalnih oralnih oblika željeza kao što su željezo-sulfat ili željezo-bisglicinat (Slika 7) (Fabiano i sur., 2018).

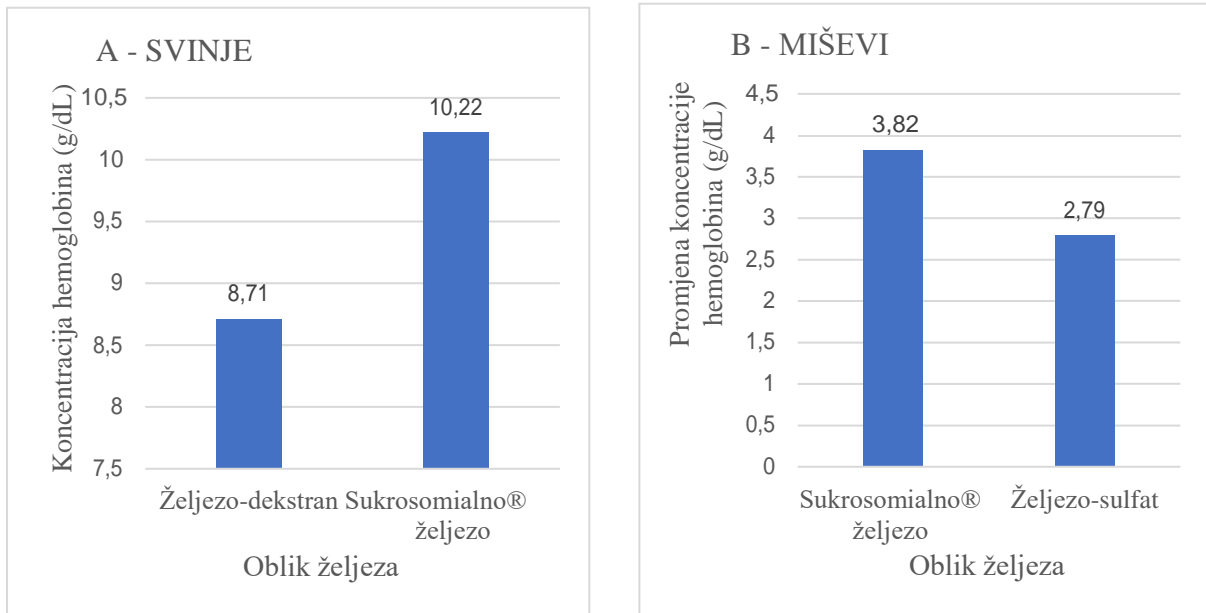


**Slika 7.** Grafički prikaz uključenosti M–stanica u apsorpciji različitih peroralnih oblika željeza. Prilagođeno iz Fabiano i sur. (2018), uz dozvolu *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*-a.

#### 4.2.3. Bioraspoloživost Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza

Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo ima veliku bioraspoloživost koja je posljedica različitih mehanizama (načina) apsorpcije takvog oblika željeza kroz intestinalne epitelne stanice. Povećana apsorpcija odražava se u povišenju koncentracija hemoglobina i feritina (Gómez-Ramírez i sur., 2018). Ispitivanja bioraspoloživosti provedena na kulturama CACO–2 stanica pokazala su da primjena Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza povećava koncentraciju feritina 3 puta više u usporedbi sa željezo- sulfatom te 3,5 puta više u usporedbi sa željezo-pirofosfatom obavijenim fosfolipidnim dvoslojem (Lipofer<sup>®</sup>) ili mikroniziranim, dispergiranim željezo-pirofosfatom (SunActive<sup>®</sup>) (Brilli i sur., 2016).

*In vivo* ispitivanja biorasploživosti Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza provedena su na miševima i mladim svinjama u kojima je potvrđena anemija zbog smanjene razine željeza u krvi. Terapija je za svinje trajala 4, a za miševe 2 tjedna. Rezultati su pokazali da Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo dovodi do povećanja koncentracija željeza i hemoglobina te pridonosi liječenju sideropenične anemije (Slika 8) (Starzynski i sur., 2017, Asperti i sur., 2018).



**Slika 8.** Grafički prikaz povišenja razina hemoglobina u mladim svinja ili miševa nakon suplementacije željezom. Prilagođeno iz Starzynski i sur. (2017) te Asperti i sur. (2018), uz dozvolu *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*-a.

#### 4.2.4. Homeostaza željeza i utjecaj na razine hepcidina

Hepcidin regulira homeostazu željeza te su njegove razine povišene u stanjima upale ili u suvišku željeza. Peroralni suplementi željeza na sličan način induciraju regulaciju otpuštanja željeza hepcidinom. Učinci peroralnih suplemenata (željezo-sulfat i Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo) na razine jetrene hepcidin mRNA i cirkulirajućeg hepcidina istraživani su u anemičnih miševa. U životinja tretiranih Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom došlo je do neznatnog povećanja jetrene hepcidin mRNA i serumskih razina hepcidina, za razliku od miševa na terapiji željezo-sulfatom. Nadalje, terapija željezo-sulfatom potaknula je ekspresiju dvaju upalnih markera; C–reaktivnog proteina (CRP) i supresora signalizacije citokina 3 (Socs3) čime se zaključuje da je došlo do stanja akutne upale. Ovakvi učinci nisu zapaženi kod primjene Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza (Asperti i sur., 2018).

## 4.3. PRIMJENA LIPOSOMSKOG ŽELJEZA

### 4.3.1. Trudnoća i žene reproduktivne dobi

Deficit željeza s posljedičnom sideropeničnom anemijom tijekom trudnoće povećava rizik lošijeg ishoda trudnoće (npr. prijevremeni porod, niža porođajna težina djeteta), preeklampsije i postpartalnih hemoragija. Također, ispitivanja provedena na 12.470 žena s teškom anemijom pokazala su povećani rizik od mortaliteta djeteta. U postpartalnom razdoblju, anemija se povezuje sa smanjenom fizičkom sposobnošću, dužim oporavkom, kognitivnim sposobnostima i neujednačenom laktacijom. Kako bi se sve to spriječilo, NATA (engl. *Network for the Advancement of Patient Blood Management, Haemostasis and Thrombosis*) smjernice predlažu primjenu peroralne suplementacije s 30–60 mg željeza i 400 µg folne kiseline. Međutim, suradljivost pacijentica vrlo je upitna zbog gastrointestinalnih nuspojava konvencionalne terapije željezom (Muñoz i sur., 2018).

Upravo zbog navedene smanjene adherencije pacijentica, Parisi i sur. (2017) su proveli ispitivanje na zdravim trudnicama od 12.–14. tjedna trudnoće s koncentracijama hemoglobina (Hb) većim od 10,5 g/dL. Pacijentice su bile nasumično raspoređene u četiri skupine: skupina A (kontrolna skupina, bez suplementacije željezom), skupina B (željezo-sulfat, 30 mg/dan), skupina C (Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo, 14 mg/dan) i skupina D (Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo, 28 mg/dan). Pacijentice su bile praćene do 6. tjedna nakon porođaja. Rezultati ispitivanja prikazani su Tablicom 5 (Gómez-Ramírez i sur., 2018).

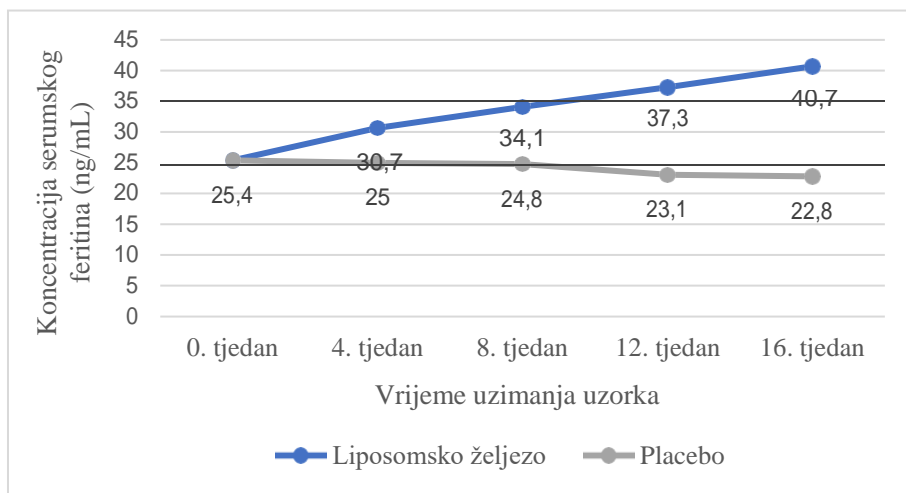
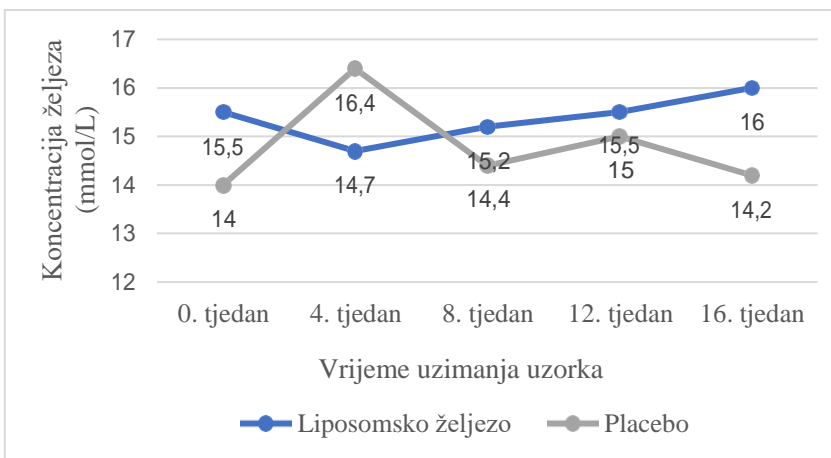
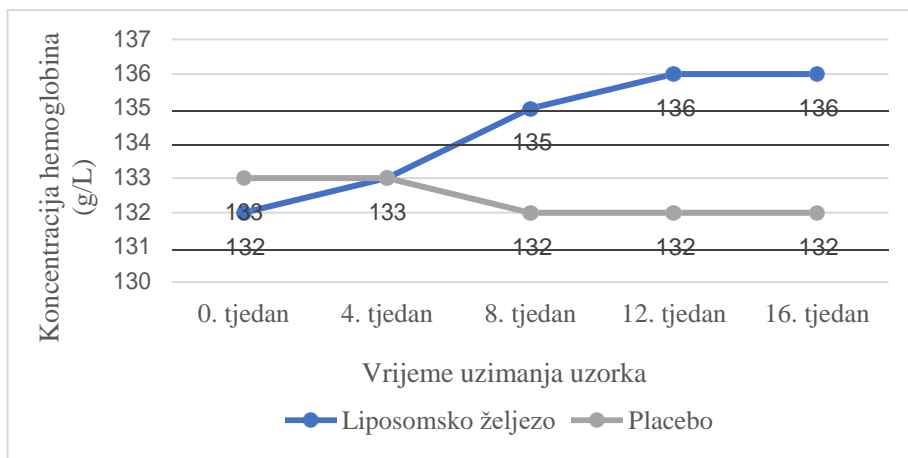
Blanco–Rojo i sur. (2011) istraživali su učinke liposomskog željeza u pacijentica s deficitom željeza. Istraživanje je bilo randomizirano, dvostruko slijepo u trajanju od 16 tjedana. Ukupno su bile uključene 122 pacijentice u dobi od 18 do 35 godina koje nisu trudnice, doжилe ili imaju neku od bolesti koja bi mogla utjecati na status željeza (npr. Chronova bolest, celijakija, renalna insuficijencija). Razine serumskog feritina bile su niže od 40 ng/mL, a razine hemoglobina više od 110 g/L. Pacijentice su bile raspoređene u dvije skupine. Jedna je skupina (n=64) primala liposomski oblik željezo-pirofosfata (18 mg željeza dnevno), a druga skupina (n=58) placebo. Praćeni su parametri tjelesne mase, MCV–a, koncentracije hemoglobina, serumskog željeza, serumskog feritina, serumskog transferina, zasićenosti transferina i razine cink-protoporfirina. Slika 9 pokazuje promjene u koncentracijama hemoglobina, serumskog željeza i feritina u istraživane dvije skupine. Istraživanje je pokazalo da je primjena liposomskog željeza učinkovita u prevenciji sideropenične anemije u visokorizičnih pacijentica.

**Tablica 5.** Pregled ispitivanja primjene željezo-sulfata i Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u 80 zdravih trudnica. Prilagođeno iz Gómez-Ramírez i sur. (2018), uz dozvolu *Multidisciplinary Digital Publishing Institute-a*.

| <b>Terapija i trajanje terapije</b>                  | <b>Hb na početku istraživanja (g/dL)</b> | <b>Hb na kraju istraživanja (g/dL)</b> | <b>Feritin na početku istraživanja (ng/mL)</b> | <b>Feritin na kraju istraživanja (ng/mL)</b> | <b>TSAT na početku istraživanja (%)</b> | <b>TSAT na kraju istraživanja (%)</b> | <b>GIT nuspojave</b> |
|--|--|--|--|--|---|---------------------------------------|----------------------|
| kontrolna skupina (n=20)                             | 12,0                                     | 11,6                                   | 47   | 31   | 28                                      | 26                                    | -                    |
| željezov sulfat, 30 mg/dan (n=20)                    | 11,9                                     | 11,8                                   | 44   | 43   | 27                                      | 27                                    | -                    |
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo, 14 mg/dan (n=20) | 12,0                                     | 12,0                                   | 52   | 41   | 28                                      | 30                                    | -                    |
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo, 28 mg/dan (n=20) | 11,9                                     | 12,0                                   | 53   | 50   | 27                                      | 29                                    | -                    |

GIT, gastrointestinalni trakt; Hb, hemoglobin; n, broj pacijentica u određenoj terapijskoj skupini; TSAT, saturacija transferina



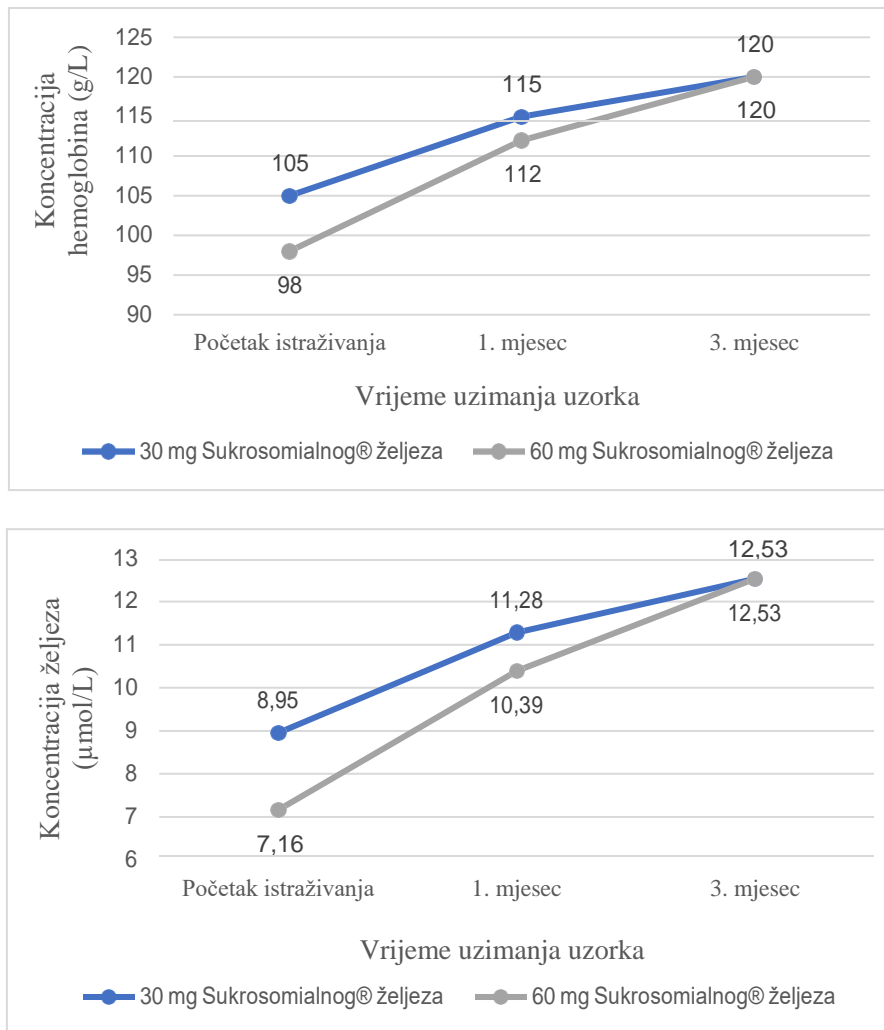


**Slika 9.** Grafički prikazi porasta koncentracija hemoglobina, serumskog željeza i serumskog feritina u zdravih žena reproduktivne dobi. Prilagođeno iz Blanco-Rojo i sur. (2011), uz dozvolu *Cambridge University Press*-a.

### 4.3.2. Onkologija

Deficit željeza i sideropenična anemija česti su u onkoloških pacijenata. Sideropenična anemija i anemija inducirana kemoterapijom (engl. *chemotherapy induced anemia*, CIA) uglavnom se liječe transfuzijom eritrocita, eritropoetskim stimulirajućim agensima (engl. *erythropoiesis stimulating agent*, ESA) ili peroralnom suplementacijom željeza, ali problemi takvih terapija su upitna sigurnost i visoka cijena. Smjernice donesene na 4. Mediteranskom multidisciplinarnom susretu sideropenične anemije predlažu da se u svih onkoloških pacijenata (posebno onih na citotoksičnoj kemoterapiji, radioterapiji ili koji će se podvrgnuti operativnom zahvatu) provedu testovi dijagnostike deficita željeza ili sideropenične anemije kako bi se mogla isplanirati pravovremena terapija (Barni i sur., 2017). Prema najnovijim smjericama Europskog društva za medicinsku onkologiju, pacijenti sa CIA ( $Hb \leq 110$  g/L) i apsolutnim deficitom željeza (serumski feritin  $< 100$  ng/mL) trebaju biti liječeni suplementima željeza. U slučaju funkcionalnog deficita željeza (engl. *functional iron deficiency*, FID, TSAT  $< 20\%$ ), preporuka je da se terapija željezom započne prije i/ili za vrijeme ESA terapije. Peroralni oblici željeza trebaju biti uzeti u obzir kao terapija samo kod pacijenata s apsolutnim deficitom željeza i u neupalnim stanjima (CRP  $< 5$  mg/L). Smjernice također preporučaju parenteralnu primjenu željeza za liječenje FID-a, ali navode da dugotrajna sigurnost takve primjene nije ispitana. Iz tih razloga, razmatrano je uvođenje terapije Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom u onkoloških pacijenata (Barni i sur., 2017, Aapro i sur., 2018).

Sabbatini i Bonfitto (2017) istraživali su učinkovitost Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u anemičnih pacijenata sa solidnim tumorima. U istraživanje je bilo uključeno 30 pacijenata (16 muškaraca, 14 žena) između 30 i 70 godina. Svi su pacijenti imali sideropeničnu anemiju uzrokovanu kemoterapijom i solidan tumor: karcinom kolona (n=8), karcinom dojke (n=7), karcinom gušterače (n=2), karcinom usne šupljine (n=1), rektalni karcinom (n=3), karcinom želuca (n=1), karcinom pluća (n=3), karcinom bubrega (n=1), karcinom larinksa (n=1), karcinom prostate (n=1), ezofagealni karcinom (n=1) i karcinom mjehura (n=1). Pacijenti su bili podijeljeni u dvije skupine. Prva skupina primala je 30 mg/dan Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza, a druga skupina 60 mg/dan. Bilježeni su parametri koncentracije hemoglobina i serumskog željeza u periodu od 3 mjeseca (Slika 10). Također su se bilježile i nuspojave na primijenjenu terapiju te su zamijećene blaga dispepsija i dijareja.



**Slika 10.** Grafički prikaz rezultata ispitivanja provedenog na 30 pacijenata sa solidnim tumorima. Prilagođeno iz Sabbatini i Bonfitto (2017), uz dozvolu *Taylor & Francis*-a.

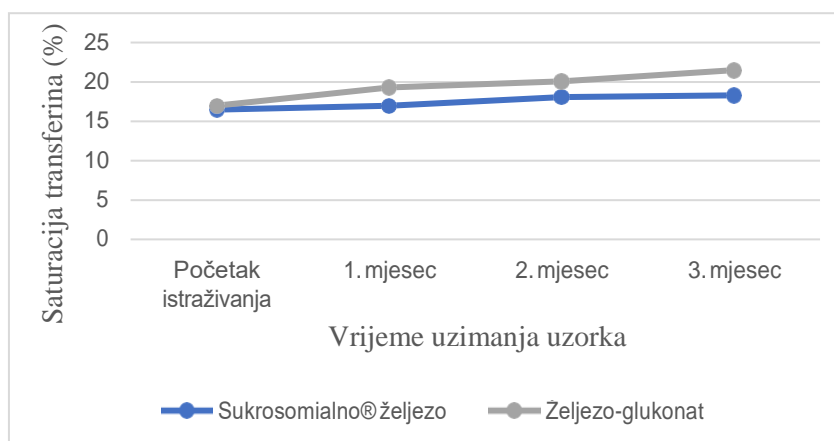
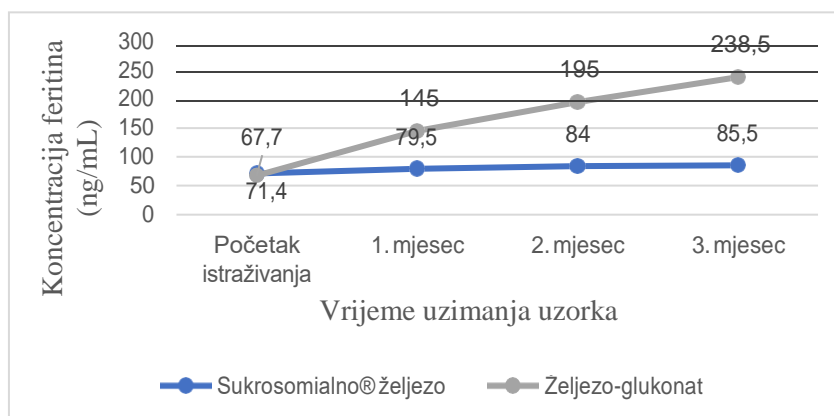
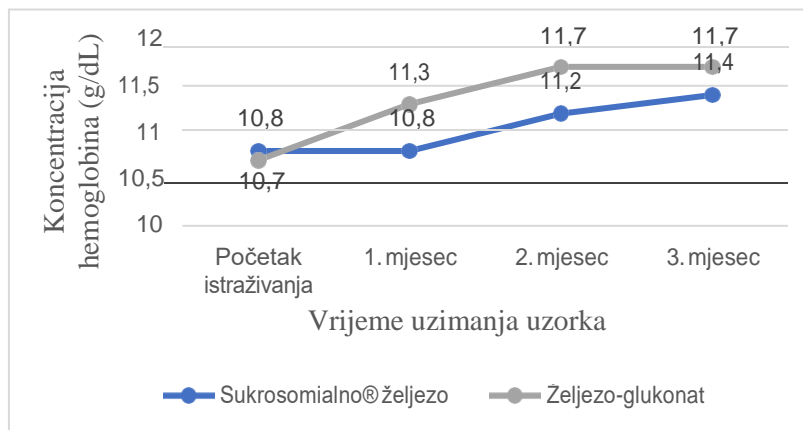
Nadalje, Barzaghi i sur. (2016) su istraživali učinak Sukrosomialnog® i intravenski primijenjenog željeza kao dodatka radioterapiji rektalnog karcinoma u 15 pacijenata (III. stadij engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*, ECOG; ECOG $\geq$ 2 i povećani limfni čvorovi). Za 11 pacijenata (skupina A) bila je određena peroralna terapija Sukrosomialnim® željezom u dozi od 30 mg/dan, a za ostala 4 pacijenta (skupina B) intravenska terapija željezom u dozi od 100 mg/dan. Nakon 21. dana provedene terapije, uočeno je povećanje koncentracija hemoglobina i u skupini A (11,4 vs 8,5 g/dL) i u skupini B (11,6 vs 7,9 g/dL). Tijekom terapije, zabilježene su reakcije na mjestu primjene u 3 pacijenta skupine B. Primjena Sukrosomialnog® željeza nije dovela do gastrointestinalnih nuspojava, a pokazala se jednako učinkovita u povećanju koncentracija hemoglobina kao i intravenska terapija željezom.

### 4.3.3. Nefrologija

Glavni uzrok anemije u kroničnoj bubrežnoj insuficijenciji je manjak eritropoetina. Međutim, anemiji pridonosi i deficit željeza, hemoliza te slab odgovor na eritropoetin. Suplementacija željezom i terapija ESA-om temelj su liječenja anemije u pacijenata s kroničnom bubrežnom insuficijencijom. Prema dosadašnjim iskustvima, stopa smrtnosti i incidencija nuspojava podjednaka je i kod peroralne i parenteralne terapije željezom, iako se uz peroralnu terapiju češće vežu gastrointestinalne nuspojave, smanjena adherencija i suboptimalna apsorpcija (Pisani i sur., 2014). Međutim, provedena ispitivanja pokazuju veći rizik kardiovaskularnih događaja te pojavu infekcija uslijed parenteralne primjene preparata željeza. Provedena kohortna studija na 58.058 bubrežnih bolesnika na hemodijalizi, dokazala je da intravenska primjena željeza u dozama većim od 1000 mg mjesečno, značajno povisuje rizik od kardiovaskularnih događaja koji dovode do smrti (Kalantar-Zadeh i sur., 2005).

KDIGO (engl. *Kidney Disease Global Improving Outcomes*) smjernice predlažu primjenu parenteralnih pripravaka željeza kod pacijenata na hemodijalizi, ali ne postoje preporuke za pacijente koji nisu na hemodijalizi. Pisani i sur. (2014) su ispitivali učinak peroralnog primijenjenog Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza (30 mg/dan) i intravenskog željezo-glukonata (125 mg/tjedan) u pacijenata s kroničnom bubrežnom insuficijencijom koji nisu na dijalizi. U ispitivanje je bilo uključeno 99 pacijenata starijih od 18 godina, s blagom anemijom ( $Hb \leq 12$  g/dL, feritin  $\leq 100$  ng/mL, TSAT  $\leq 25\%$ ) i stupnjem glomerularne filtracije  $< 60$  mL/min/1,73 m<sup>3</sup>. Isključujući kriteriji su bili stanje akutne upale, karcinom, krvarenje ili transfuzija krvi u posljednjih 6 mjeseci, imunosupresivna terapija, teška malnutricija, bolest jetre, hepatitis B ili C, trudnoća i dojenje. Ispitivanje je trajalo 3 mjeseca, a redovito se pratila suradljivost pacijenata i bilježile su se moguće nuspojave prema standardiziranim upitnicima. Pacijenti su nasumično bili raspoređeni u dvije skupine, od kojih je jedna skupina (n=33) primala intravensko željezo-glukonat, a druga skupina (n=66) peroralno Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo. U obje je skupine došlo do povećanja koncentracija hemoglobina (Slika 11), feritina i TSAT-a. Nakon prestanka terapije, koncentracija hemoglobina u pacijenata koji su bili na parenteralnoj terapiji je ostala stabilna, za razliku od onih pacijenata koji su bili na terapiji Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom. Incidencija nuspojava značajno je bila viša u skupini pacijenata na parenteralnoj terapiji (34,5% vs 3,1%), a najčešće prijavljene nuspojave bile su glavobolja, hipotenzija i reakcije na mjestu primjene. Rezultati ovog ispitivanja pokazali su da primjena liposomskog željeza nije inferiornija parenteralnoj primjeni željezo-glukonata, iako željezo-glukonat brže povećava koncentracije hemoglobina, ali u konačnici je povećanje

koncentracija željeza bilo podjednako. Nadalje, pokazalo se da željezo-glukonat bolje popunjava zalihe željeza u organizmu, što pokazuju parametri koncentracije serumskog feritina i zasićenosti transferina koje su bile značajno više u pacijenata na intravenskoj terapiji.



**Slika 11.** Grafički prikaz porasta koncentracija hemoglobina, serumskog feritina i TSAT-a u pacijenata s kroničnom bubrežnom insuficijencijom na peroralnoj terapiji Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom ili intravenskoj terapiji željezo-glukonom. Prilagođeno prema Pisani i sur. (2014), uz dozvolu Oxford University Press-a

U nekoliko drugih ispitivanja provedenih u pacijenata s bubrežnom insuficijencijom, peroralna terapija Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom, bez ili s ESA–om također se pokazala učinkovitom u održavanju i/ili povećavanju koncentracija hemoglobina, feritina i TSAT–a (Tablica 6) (Gómez-Ramírez i sur., 2018).

**Tablica 6.** Pregled istraživanja peroralne primjene Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u pacijenata s kroničnom bubrežnom insuficijencijom. Prilagođeno iz Gómez-Ramírez i sur. (2018), uz dozvolu *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*-a.

| Terapija i trajanje terapije                                     | Hb na početku istraživanja (g/dL) | Hb na kraju istraživanja (g/dL) | Feritin na početku istraživanja (ng/mL) | Feritin na kraju istraživanja (ng/mL) | TSAT na početku istraživanja (%) | TSAT na kraju istraživanja (%) | GIT nuspojave | Literatura                |
|--|-----------------------------------|---------------------------------|---|---------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------|---------------------------|
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo (30 mg/dan), 6 mjeseci, n=24  | 11,1                              | 12,8                            | 34                                      | 75                                    | 13,8                             | 26,1                           | 0%            | Arenas i sur., 2016       |
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo (30 mg/dan), 18 mjeseci, n=30 | 11,0                              | 11,9                            | 43                                      | 99                                    | -                                | -                              | 0%            | Griveas i sur., 2017      |
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo (30 mg/dan), 24 mjeseci, n=40 | 11,6                              | 12,0                            | 74                                      | 66                                    | -                                | -                              | 0%            | Griveas i sur., 2018      |
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo (30 mg/dan), 12 mjeseci, n=31 | 12,0                              | 11,9                            | 100                                     | 116                                   | 17,0                             | 18,7                           | 3%            | Arrizabalaga i sur., 2017 |

GIT, gastrointestinalni trakt; Hb, hemoglobin; n, broj pacijenata uključenih u ispitivanje; TSAT, saturacija transferina

#### 4.3.4. Gastroenterologija

Anemija je najčešća sistemska komplikacija upalnih bolesti crijeva, celijakije, intolerancije glutena nevezane uz celijakiju i autoimunog atrofičnog gastritisa. Veliki problem u liječenju sideropenične anemije je netolerancija na peroralnu terapiju suplementima željeza (npr. željezo-sulfat) te je potrebno pronaći odgovarajuću terapiju za svakog pojedinog pacijenta. Upravo zbog svoje gastrozistentnosti i zaštite od direktnog kontakta s intestinalnom sluznicom, Sukrosomialno® željezo predstavlja potencijalno rješenje (Gómez-Ramírez i sur., 2018).

##### 4.3.4.1. Upalne bolesti crijeva

Deficit željeza u 90% slučajeva dovodi do sideropenične anemije u pacijenata s upalnim bolestima crijeva. Kronični deficit željeza nastaje zbog niza razloga: smanjeni unos, malapsorpcija, kronična upala i intestinalno krvarenje. Prema smjernicama Europske organizacije za Crohnovu bolest i ulcerozni kolitis (engl. *European Crohn's and Colitis Organisation*, ECCO), peroralna terapija željezom opcija je u liječenju blage anemije (Hb>11 g/dL) te kod pacijenata u remisiji bolesti i s tolerancijom na suplementaciju peroralnim željezom. S druge strane, intravenska terapija željezom preporuča se u pacijenata s Hb<10 g/dL, aktivnom bolešću te netolerancijom na peroralno željezo. Peroralna terapija željezom može pogoršati stanje bolesti i aktivirati bolest dovodeći do povećanja razina malondialdehida i proupalnih citokina, što posljedično rezultira oksidativnim stresom. Također, uočene su i promjene u mikrobioti gastrointestinalnog sustava nakon peroralne, ali i intravenske terapije željezom (Abbati i sur., 2018).

Abbati i sur. (2018) istraživali su učinke Sukrosomialnog® željeza u 30 pacijenata s dijagnosticiranim upalnim bolestima crijeva tijekom 12 tjedana. Pacijenti su prije uključanja u ispitivanje morali zadovoljiti određene karakteristike; neaktivna ili slabo aktivna bolest i blaga sideropenična anemija. Blaga sideropenična anemija dijagnosticirana je na temelju zahtjeva SZO-a (koncentracija hemoglobina između 11,0 i 11,9 g/dL u žena te 11,0 i 12,5 g/dL u muškaraca). Isključujući kriteriji bili su hemolitička anemija, bubrežno zatajenje, aktivni peptički ulkus, ciroza jetre, trudnoća i dojenje. 56,7% (n=17) pacijenata imalo je dijagnosticiranu Crohnovu bolest, a 43,3% (n=13) ulcerozni kolitis te su svi pacijenti u to vrijeme bili na odgovarajućoj terapiji upalnih bolesti crijeva. Efikasnost terapije Sukrosomialnog® željeza ispitivana je mjerenjem promjena koncentracija hemoglobina, MCV-a, serumskog željeza, feritina, hepcidina i saturacije transferina. Također, pratila se

incidencija gastrointestinalnih simptoma (epigastrična bol, povraćanje, dijareja, mučnina, konstipacija, melena, intestinalno i rektalno krvarenje) te je za svaki simptom ustanovljen intenzitet (blago, srednje ili jako), frekvencija pojavnosti, ozbiljnost, potrebna intervencija te veza s terapijom (sigurna, vjerojatna, moguća, nesigurna, nepovezana). Ukupno je tijekom provedene terapije bilo zabilježeno 11 događaja u 9 pacijenata. Svi su gastrointestinalni događaji bili blagog intenziteta i nisu zahtijevali medicinsku intervenciju. Nijedan od simptoma nije doveden u vezu s primjenom Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza (povraćanje i mučnina, konstipacija–moguće povezano; dijareja i epigastrička bol–vjerojatno nepovezano). Nakon 12 tjedana terapije, kod 86% pacijenata došlo je do povećanja koncentracija hemoglobina ( $12,38 \pm 0,8$  vs  $11,67 \pm 0,5$  g/dL) serumskog željeza ( $65,03 \pm 34,1$  vs  $41,79 \pm 8,9$  mg/dL), TSAT–a ( $16,72 \pm 10,1$  vs  $10,96 \pm 3,6\%$ ). Koncentracija serumskog feritina nije porasla ( $44,62$  vs  $45,79$  ng/mL).

U Tablici 7 navedeni su i rezultati drugih ispitivanja provedenih na pacijentima s upalnim bolestima crijeva.

#### 4.3.4.2. Autoimuni atrofični gastritis

Autoimuni atrofični gastritis (engl. *autoimmune atrophic gastritis*, AAG) može nastati kao posljedica infekcije s *Helicobacter pylori*, pri čemu se stvaraju protutijela na parijetalne stanice želuca. Atrofija sluznice dovodi do hipohidrije ili aklorhidrije i većina pacijenata s AAG–om razvije anemiju, bilo zbog deficita kobalamina ili deficita željeza. AAG u 20–27% slučajeva rezultira sideropeničnom anemijom koja ne odgovara na peroralnu terapiju suplementima željeza (Gómez-Ramírez i sur., 2018).

Farinati i Maddalo (2018) proveli su istraživanje učinkovitosti peroralnog Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u AAG žena (100% s protutijelima na parijetalne stanice). Pacijenticama je dijagnosticirana sideropenična anemija ( $Hb < 12,0$  g/dL) i tijekom 8 tjedana primale su 120 mg/dan Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza. Nakon 8 tjedana, zabilježena su povećanja u koncentracijama hemoglobina ( $12,5$  vs  $10,5$  g/dL), feritina ( $27$  vs  $7$  ng/mL) i TSAT–a ( $18$  vs  $8$  %), uz incidenciju gastrointestinalnih nuspojava od 10%.



**Tablica 7.** Pregled istraživanja primjene Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u pacijenata s upalnim bolestima crijeva. Prilagođeno iz Gómez-Ramírez i sur. (2018), uz dozvolu *Multidisciplinary Digital Publishing Institute-a*.

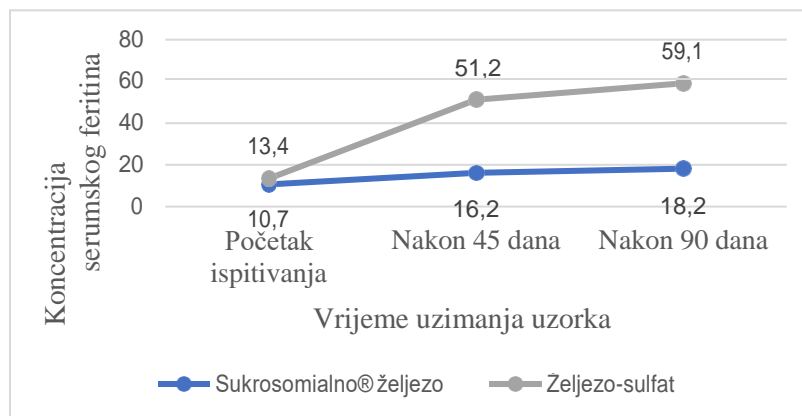
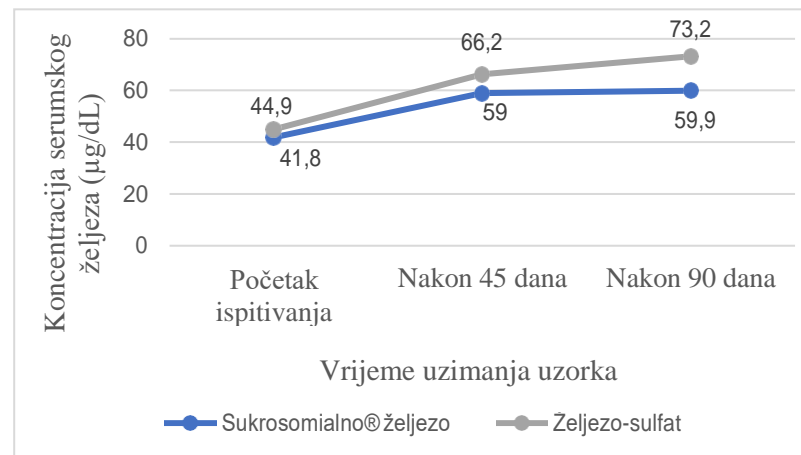
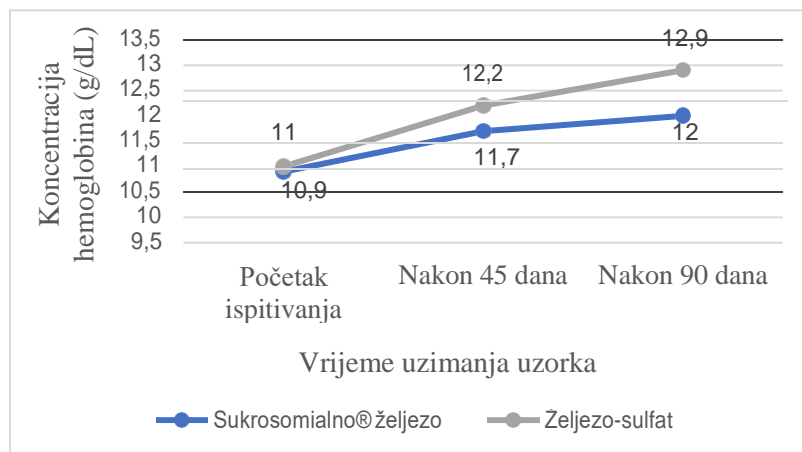
| Terapija i trajanje terapije   | Hb na početku istraživanja          | Hb na kraju istraživanja            | Feritin na početku istraživanja | Feritin na kraju istraživanja | TSAT na početku istraživanja | TSAT na kraju istraživanja | GIT nuspojave      | Literatura            |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------------------|--------------------|-----------------------|
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo (30 mg/dan), 3 mjeseca<br>n=46 (netolerancija na željezo-sulfat)          | 11,2 g/dL                           | 11,8 g/dL                           | 14,3 ng/mL                      | 16,0 ng/mL                    | 8,7%                         | 16,2%                      | 11%                | Bastida i sur., 2016  |
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo (60 mg/dan), 3 mjeseca,<br>n=6  | 11,1 g/dL                           | 12,4 g/dL                           | 12,4 ng/mL                      | 20,2 ng/mL                    | 8,1%                         | 15,7%                      | 0%                 | Stuhlov i sur., 2017  |
| Sukrosomialno <sup>®</sup> željezo (30 mg/dan), željezo-sulfat (105 mg/dan) bez terapije, 3 mjeseca,<br>n=27 | 10,6 g/dL<br>10,9 g/dL<br>11,4 g/dL | 12,6 g/dL<br>12,3 g/dL<br>11,9 g/dL | -                               | -                             | -                            | -                          | 7,1%<br>12,5%<br>- | Indriolo i sur., 2014 |

GIT, gastrointestinalni trakt; Hb, hemoglobin; n, broj pacijenata uključenih u ispitivanje; TSAT, saturacija transferina

#### 4.3.4.3. Celijakija

Celijakija je česta autoimuna bolest sluznice tankog crijeva, s prevalencijom od 1% u zapadnim zemljama. Pacijenti s celijakijom često boluju od sideropenične anemije pa im se propisuje odgovarajuća terapija. Međutim, problem je netolerancija na soli željeza (npr. željezo-sulfat) i duodenalna atrofija koja smanjuje učinkovitost terapije. Odgovor na suplementaciju željezom može biti poboljšán uslijed korištenja formulacije željeza koja će povećati apsorpciju kroz intestinalnu barijeru, a ujedno i zaobilaziti atrofičnu sluznicu (Elli i sur., 2018). Iz tog razloga Elli i sur. (2018) su proveli ispitivanje učinkovitosti Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u pacijenata s celijakijom i poznatom netolerancijom na željezo-sulfat. Ukupno je bilo uključeno 43 pacijenta (38 žena i 5 muškaraca) s prosječnom dobi od 41 godine, a 55% pacijenata je prijavilo nuspojave i netoleranciju na prethodnu terapiju željezo-sulfatom. Sideropenična anemija dijagnosticirana je na temelju koncentracija hemoglobina (<12,2 g/dL u žena i <13,7 g/dL u muškaraca), serumskog željeza, feritina (<20 ng/mL) i saturacije transferina (<20%). Svi su pacijenti bili prethodno 12 mjeseci na strogoj bezglutenskoj prehrani kako bi se normalizirale razine anti-transglutaminaze IgA. Pacijenti su bili podijeljeni u dvije skupine; skupina A (poznata netolerancija na željezo-sulfat) primala je Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo u dozi od 30 mg/dan, a skupina B (tolerancija na željezo-sulfat i novo uvedena terapija željezo-sulfatom) primala je željezo-sulfat u dozi od 105 mg/dan. Pacijenti su praćeni u razdoblju od 90 dana (na početku ispitivanja, nakon 45 dana, na kraju ispitivanja, tj. nakon 90 dana), a određivani su parametri koncentracije hemoglobina, MCV-a, hematokrita, serumskog željeza, feritina i saturacije transferina. Također, bilježene su nuspojave (npr. dijareja, konstipacija, abdominalna bol), pušenje, gubitak mjesečnica te infekcije s *H. pylori*. Rezultati ispitivanja prikazani su na Slici 12. Svi ispitivani parametri poboljšali su se u obje skupine i nisu utvrđene statistički značajne razlike u odgovorima na terapiju, osim koncentracije serumskog feritina koja je bila značajno viša u pacijenata na terapiji željezo-sulfatom. Nadalje, zabilježene su ukupno četiri neočekivana događaja: abdominalne kolike, svrbež vaginalnog područja u pacijentica na terapiji Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom te mučnina i dispepsija uz gastroezofagealni refluks u pacijenata na terapiji željezo-sulfatom. Oba su događaja u skupini B procijenjena potencijalno povezanim s terapijom, za razliku od događaja u skupini A koji su procijenjeni nevezanim za terapiju. Incidencija gastrointestinalnih simptoma poput abdominalne boli, nadutosti i konstipacije bila je nešto viša u skupini B. Rezultati provedenih ispitivanja su pokazali da je primjena Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza učinkovita alternativa željezo-sulfatu, posebno u pacijenata sa

sideropeničnom anemijom i netolerancijom na željezo-sulfat. Važno je napomenuti da je bila primijenjena 33% manja doza Sukrosomialnog® željeza te da je prijavljeno manje gastrointestinalnih nuspojava u toj skupini pacijenata.



**Slika 12.** Grafički prikazi porasta koncentracija hemoglobina, serumskog željeza i feritina u ispitivanju provedenom na 43 pacijenta s celijakijom. Prilagođeno iz Elli i sur. (2018), uz dozvolu *Multidisciplinary Digital Publishing Institute-a*.

#### 4.3.4.4. Netolerancija glutena nevezana uz celijakiju

Primjena Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza pokazala se učinkovita u liječenju sideropenične anemije i u pacijenata s netolerancijom glutena nevezanom uz celijakiju (engl. *non-celiac gluten sensitivity*, NCGS) (Gómez-Ramírez i sur., 2018).

Ragozzino i sur. (2015) proveli su istraživanje na 28 NCGS pacijenata koji su tijekom 3 mjeseca peroralno primali Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo; 15 dana u dozi od 30 mg/dan, a 75 dana u dozi od 15 mg/dan. Na kraju ispitivanja, rezultati su pokazali povišenje koncentracija hemoglobina (12,5 vs 9,7 g/dL) i feritina (29 vs 18 ng/mL).

#### 4.3.4.5. Barijatrijska kirurgija

Barijatrijska kirurgija grana je kirurgije koja se bavi kirurškim liječenjem debljine te može rezultirati različitim nutritivnim deficitima, uključujući i deficit željeza. Rizik nastanka deficita povećava se s godinama od operativnog zahvata i veći je u žena reproduktivne dobi. U četverogodišnjem praćenju pacijenata nakon ugradnje želučane premosnice ili uklanjanja većeg dijela želuca, ustanovljeno je da je pojavnost deficita željeza puno manja u muškaraca, nego u žena (17,2% vs 31,5%) (Shipton i sur., 2018).

Ciudin i sur. (2017) su proveli kontroliranu studiju učinka Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u 40 žena reproduktivne dobi. Pacijentice su prije uključivanja u studiju morale zadovoljiti određene kriterije: ugradnja želučane premosnice (engl. *Roux-en-Y gastric bypass*, RYGB,) kao način liječenja pretilosti, životna dob viša od 18 godina, stabilna tjelesna težina tijekom prethodnih 6 mjeseci, trenutna intravenska terapija željezom (željezov (III) hidroksid i saharoza, 300 mg/mjesec). Intravenska terapija bila je izbor u ovih pacijentica zbog gastrointestinalne netolerancije ili neuspjeha prethodne peroralne terapije željezom. Pacijentice su bile podijeljene u dvije skupine; skupina A je primala Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo (28 mg/dan) dok je skupina B uzimala željezov (III) hidroksid i saharozu (300 mg/mjesec). Nakon 3 mjeseca provedene terapije, nisu zamijećene velike razlike u koncentracijama hemoglobina (12 vs 13 g/dL), feritina (89 vs 96 ng/mL) i TSAT-a (24 vs 26%).

Badiali i sur. (2017) također su ispitivali učinak Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u pacijenata nakon RYGB-a. U studiju je bilo uključeno 9 pacijenata koji su tijekom 3 mjeseca primali Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo u dozi od 30 do 60 mg/dan. Nakon završetka terapije uočeno je blago

povišenje koncentracija hemoglobina (12,6 vs 11,4 g/dL) i feritina (19,0 vs 6,7 ng/mL) te nisu zabilježene nikakve gastrointestinalne nuspojave.

#### 4.3.5. Kardiologija

Deficit željeza (sa ili bez razvoja sideropenične anemije) pogađa 50% pacijenata s kroničnim srčanim zatajenjem, a uočava se smanjenom fizičkom sposobnošću, smanjenom kvalitetom života i povećanom razinom mortaliteta (Goodnough i sur., 2017). Kronično zatajenje srca smatra se blagim upalnim stanjem koje povećava cirkulirajuće razine hepcidina. Hepcidin potom veže ferroportin, posebno u enterocitima te uzrokuje njegovu internalizaciju i degradaciju čime se sprječava apsorpcija željeza. Europsko društvo za kardiologiju preporuča intravensku primjenu željeza u liječenju deficita željeza u pacijenata s kroničnim zatajenjem srca (Ponikowski i sur., 2016).

Karavidas i sur. (2018) su ispitivali primjenu peroralnog Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u 30 pacijenata s kroničnim srčanim zatajenjem i deficitom željeza s ili bez posljedične anemije. Pacijenti su imali srčano zatajenje NYHA (engl. *New York Heart Association*) stupnja II ili III, a deficit željeza i sideropenična anemija bili su dijagnosticirani s obzirom na koncentraciju hemoglobina (9,0–13,5 g/dL u žena i 9,0–15,0 g/dL u muškaraca), koncentraciju feritina (<100 ng/mL) i razine TSAT-a (<20%). Svi su pacijenti barem mjesec dana prije uključjenja u ispitivanje bili na stabilnoj terapiji za kronično zatajenje srca. Pacijenti su bili raspoređeni u dvije skupine; skupina A je bila na terapiji Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom (30 mg/dan), a skupina B bila je kontrolna (bez suplementacije željezom). Nakon 3 mjeseca provedenog ispitivanja, primijećeni su porasti u koncentraciji serumskog željeza (60,3±16,2 vs 43,7±19,0 mg/mL) dok su koncentracije hemoglobina ostale stabilne. Svi su pacijenti u skupini A bili vrlo adherentni i nisu bile zabilježene nikakve nuspojave, a poboljšana je i kvaliteta života (ispitano prema tzv. *Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire*).

Također, provedena su i druga ispitivanja primjene Sukrosomialnog<sup>®</sup> željeza u pacijenata s kroničnim srčanim zatajenjem, a rezultati istraživanja sažeti su u Tablici 8.

**Tablica 8.** Pregled istraživanja primjene Sukrosomialnog® željeza u pacijenata s kroničnim zatajenjem srca. Prilagođeno iz Gómez-Ramírez i sur. (2018), uz dozvolu *Multidisciplinary Digital Publishing Institute-a*.

| <b>Terapija i trajanje terapije</b>                   | <b>Hb na početku istraživanja</b> | <b>Hb na kraju istraživanja</b> | <b>Feritin na početku istraživanja</b> | <b>Feritin na kraju istraživanja</b> | <b>GIT nuspojave</b> | <b>Literatura</b>      |
|---|-----------------------------------|---------------------------------|--|--------------------------------------|----------------------|------------------------|
| Sukrosomialno® željezo (60 mg/dan), 1 mjesec<br>n=9   | 10,3 g/dL                         | 11,0 g/dL                       | 32 ng/mL                               | 67 ng/mL                             | -                    | Marazia i sur., 2017   |
| Sukrosomialno® željezo (60 mg/dan), 5 tjedana<br>n=10 | 10,5 g/dL                         | 11,5 g/dL                       | -                                      | -                                    | 0%                   | Putorti i sur., 2017   |
| Sukrosomialno® željezo (30 mg/dan), 3 mjeseca<br>n=10 | 12,8 g/dL                         | 13,4 g/dL                       | 48 ng/mL                               | 102 ng/mL                            | 0%                   | Karavidas i sur., 2017 |

GIT, gastrointestinalni trakt; Hb, hemoglobin; n, broj pacijenata uključenih u ispitivanje; TSAT, saturacija transferina

#### 4.3.6. Kirurgija

Predoperativna anemija čest je slučaj među pacijentima (30–40%) kojima slijedi neki operativni zahvat, a time se povećava rizik dugotrajnijeg i težeg oporavka (Muñoz i sur., 2017). Postoperativna anemija je češća u pacijenata i javlja se u 80–90% slučajeva (Muñoz i sur., 2018). Najčešći uzrok predoperativne anemije je apsolutni deficit željeza, dok je obilan gubitak krvi tijekom operacije vodeći razlog nastanka postoperativne anemije. Muñoz i sur. (2017) predlažu liječenje predoperativne anemije prije započinjanja bilo kakvog operativnog zahvata, s ciljnim razinama hemoglobina  $\geq 130$  g/L u oba spola.

Scardino i sur. (2018) su proveli retrospektivnu studiju učinkovitosti terapije peroralnim Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom na 200 pacijenata prije ugradnje umjetnog kuka. Pacijenti uključeni u ispitivanje odabrani su s obzirom na njihove koncentracije hemoglobina (12,0–13,5 g/dL za žene i 13,0–14,0 g/dL za muškarce), koncentracije serumskog feritina (<100 ng/mL) i razine TSAT-a (<20%). Predoperativna suplementacija željezom provedena je u 100 pacijenata koji su 3–4 tjedna prije operacije primali Sukrosomialno<sup>®</sup> željezo u dozi od 30 mg/dan, a ostalih 100 pacijenata predstavljalo je kontrolnu skupinu koja nije primala nikakvu suplementaciju željeza. Analiza rezultata kliničke studije pokazala je da, suplementacija Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom dovodi do smanjenja broja potrebnih transfuzija krvi (0 vs 7) i smanjila je duljinu hospitalizacije pacijenata (4 vs 6,5 dana). Također, u skupini pacijenata na suplementaciji Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom, zabilježene su i veće koncentracije hemoglobina 30 dana nakon otpuštanja iz bolnice (13,4±1,5 vs 10,2±1,2 g/dL).

Buioni i sur. (2017) su ispitivali učinkovitost suplementacije Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom u 22 pacijenta nakon kardiološke operacije. Terapija Sukrosomialnim<sup>®</sup> željezom trajala je 3 tjedna, a primijenjena doza iznosila je 120 mg/dan. Zabilježen je porast koncentracija hemoglobina s 10,0 na 12,0 g/dL i nisu zamijećene nikakve gastrointestinalne nuspojave.

## 5. ZAKLJUČAK

Primjena liposomskog oblika željeza relativno je novi pristup prevenciji i liječenju deficita željeza i sideropenične anemije.

Liposomsko se željezo odlikuje boljom bioraspoloživošću, podnošljivošću i kraćim trajanjem terapije u usporedbi s konvencionalnim oblicima terapije.

Liposomsko se željezo pokazalo učinkovitim u prevenciji deficita željeza i posljedično, razvoju sideropenične anemije, kod žena nakon porođaja te u visokorizičnih pacijentica reproduktivne dobi.

U onkoloških i nefroloških pacijenata, primjena liposomskog željeza dovela je do povećanja koncentracija hemoglobina i popravljivanja krvne slike već unutar nekoliko tjedana od početka primjene. Liposomsko željezo je bilo jednako učinkovito kao i intravenska terapija željezom, uz manju incidenciju nuspojava, ali uz brže pražnjenje rezervi željeza nakon prestanka liječenja.

U gastroenteroloških pacijenata, koji predstavljaju vrlo zahtjevnu skupinu zbog česte netolerancije na peroralne suplemente željeza, liposomsko željezo se pokazalo superiornom formulacijom zbog izbjegavanja kontakta sa želučanom sluznicom i potpune apsorpcije u crijevima čime se izbjegavaju uobičajene gastrointestinalne nuspojave poput mučnine, povraćanja i konstipacije.

Primjena liposomskog željeza u pacijenata s kroničnim zatajenjem srca, dovela je do povećanja koncentracija serumskog željeza, ali ne i do znatnijih povećanja koncentracije hemoglobina. Predoperativna primjena liposomskog željeza pokazala se učinkovita u smanjenju broja transfuzija i duljine hospitalizacije pacijenata.

Liposomsko željezo učinkovit je način prevencije i liječenja deficita željeza i sideropenične anemije u različitim skupinama pacijenata. Međutim, radi se o novijem pristupu liječenja pa je nedostatak provedenih studija mali uzorak i relativno kratko vrijeme praćenje pacijenata.



## POPIS KRATICA KORIŠTENIH U DIPLOMSKOM RADU

AAG, autoimuni atrofični gastritis; CIA, anemija inducirana kemoterapijom; CRP, C-reaktivni protein; DCYTD, citokrom-d-ferireduktaza; DMT1, dvovalentni metalni transporter; ECCO, Europska organizacija za Chronovu bolest i ulcerozni kolitis; ECOG, procjena općeg tjelesnog stanja bolesnika; ESA, eritropoetski stimulirajući agens; FID, funkcionalni deficit željeza; GIT, gastrointestinalni trakt; GUV, veoma veliki unilamelarni liposomi; Hb, hemoglobin; HLB, hidrofilno-lipofilni balans; IREG1, prijenosnik feroportina 1; KDIGO, *Kidney Disease Global Improving Outcomes*; LUV, veliki lamelarni liposomi; MCV, srednji volumen eritrocita; MLV, multilamelarni liposomi; MUV, srednje veliki unilamelarni liposomi; MVL, multivezikularni liposomi; n, broj pacijenata; NATA, *Network for the Advancement of Patient Blood Management, Haemostasis and Thrombosis*; NCGS, netolerancija glutena nevezana uz celijakiju; NSAR, nesteroidni antireumatski lijekovi; NYHA, *New York Heart Association*; OLV, oligolamelarni liposomi; RYGB, *Roux-en-Y* želučana premosnica; Socs3, supresor signalizacije citokina 3; SUV, mali unilamelarni liposomi; SZO, Svjetska zdravstvena organizacija; TfR, transferinski receptor; TIBC, kapacitet vezanja željeza za transferin; Tp, temperatura faznog prijelaza; TSAT, saturacija transferina; UIBC, nezasićeni kapacitet vezanja željeza; UV, unilamelarni liposomi

## 6. LITERATURA

Aapro M, Beguin Y, Bokemeyer C, Dicato M, Gason P, Glaspy J, Hofmann A, Link H, Littlewood T, Ludwig H, Österborg A, Pronzato P, Santini V, Schrijvers D, Stauder R, Jordan K, Herrstedt J. Management of anaemia and iron deficiency in patients with cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Annals of Oncology*, 2018, 29, 96-110.

Abbati G, Incerti F, Boarini C, Pileri F, Bocchi D, Ventura P, Buzzetti E, Pietrangelo A. Safety and efficacy of sucrosomial iron in inflammatory bowel disease patients with iron deficiency anemia. *Internal and Emergency Medicine*, 2018, 14, 423-431.

Asperti A, Gryzik M, Brilli E, Castagna A, Corbella M, Gottardo R, Girelli D, Tarantino G, Arosio P, Poli M. Sucrosomial<sup>®</sup> iron supplementation in mice: Effects on blood parameters, hepcidin and inflammation. *Nutrients*, 2018, 10, 1349.

Badiali S, Mozzi E. A protocol for the treatment of iron anemia after bariatric surgery with Sucrosomial<sup>®</sup> iron. *Expert Review of Hematology*, 2017, 10, 21-22.

Barni S. 4th Mediterranean Multidisciplinary Course on Iron Anemia April 29th–30th 2016 Madrid, Spain. *Expert Review of Hematology*, 2016, 9, 1-42.

Barni S. 5th International Multidisciplinary Course on Iron Anemia 31st March–1 April 2017 Florence, Italy. *Expert Review of Hematology*, 2017, 10, 1-40.

Barzaghi D, Cristiano O, Rlmo M, Guida C. Sucrosomial<sup>®</sup> Iron and radiotherapy in the neoadjuvant treatment of rectal cancers. Good news for patients? *Expert Review of Hematology*, 2016, 9, 26-27.

Biniwale P, Pal B, Sundari T, Mandrupkar G, Datar N, Khurana AS, Qamra A, Motlekar S, Jain R. Liposomal Iron for Iron Deficiency Anemia in Women of Reproductive Age: Review of Current Evidence. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2018, 8, 993-1005.

Blanco-Rojo R, Perez-Granados AM, Toxqui L, Delgado MA, Vaquero MP. Efficacy of a Microencapsulated Iron Pyrophosphate-Fortified Fruit Juice: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Study in Spanish Iron-Deficient Women. *British Journal of Nutrition*, 2011, 105, 1652-1659.

Brilli E, Romano A, Fabiano A, Zambito Y, Di Raimondo F, Tarantino G. Sucrosomial<sup>®</sup> technology is able to promote ferric iron absorption: Pre-clinical and clinical evidences. *Blood*, 2016, 128, 3618.

Brozović M. Specijalistički rad: Suvremeni farmaceutski oblici željeza za oralnu i parenteralnu primjenu. Farmaceutsko-biokemijski fakultet. 2018, 24.

Buioni D, Nardella S, Maselli D. Effect of Sucrosomial<sup>®</sup> iron in early time after cardiac surgery. *Expert Review of Hematology*, 2017, 10, 36-37.

Ciudin A, Simo-Servat O, Balibrea JM, Vilallonga R, Hernandez C, Simo R, Mesa J. Response to oral Sucrosomial<sup>®</sup> iron supplementation in patients undergoing bariatric surgery. The BARI-FER study. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 2018, 65, 17-20.

Čulić S, Nakić M, Aurer I. Sideropenična anemija. *Medicinska naklada*, 2006.

De Benoist B i suradnici. Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005. *WHO Global Database on Anaemia*, 2008, 18-40.

Elli L, Ferretti F, Branchi F, Tomba C, Lombardo V, Scricciolo A, Doneda L, Roncoroni L. Sucrosomial<sup>®</sup> iron supplementation in anemic patients with celiac disease not tolerating oral ferrous sulfate. A prospective study. *Nutrients*, 2018, 10, 330.

Fabiano A, Brillì E, Mattii L, Testai L, Moscato S, Citi V, Tarantino G, Zambito Y. Ex vivo and in vivo study of Sucrosomial<sup>®</sup> iron intestinal absorption and bioavailability. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19, 2722.

Farinati F, Maddalo G. Iron and/or B12 deficient anemia in autoimmune gastritis. High dose sucrosomial iron supplementation: Preliminary data of a single center experience. *Expert Review of Hematology*, 2018, 11, 10.

Gómez-Ramírez S, Brillì E, Tarantino G, Muñoz M. Sucrosomial<sup>®</sup> Iron: A New Generation Iron for Improving Oral Supplementation. *Pharmaceuticals*, 2018, 11, 97.

Goodnough LT, Comin-Colet J, Leal\_Noval S, Ozawa S, Takere J, Henry D, Javidroozi M, Hohmuth B, Bisbe E, Gross I i suradnici. Management of anemia in patients with congestive heart failure. *American Journal of Hematology*, 2017, 98, 88-93.

He H, Lu Y, Qi J, Zhu Q, Chen Z, Wu W. Adapting liposomes for oral drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2019, 9, 36-48.

Kalantar-Zadeh K, Regidor DL, McAllister CJ, Michael B, Warnock DG. Time-dependent associations between iron and mortality in hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2005, 16, 3070-3080.

Karavidas A, Trogkanis E, Farmakis D, Papingiotis G, Matzaraki V, Perpinia A, Parissis J. Oral sucrosomial iron improves quality of life in heart failure patients with iron deficiency: A preliminary proof-of-concept study. *European Society of Cardiology*, 2018, P387.

Labar B, Hauptmann E i suradnici. Hematologija. *Školska knjiga*, 2007.

Mozafari MR, Johnson C, Hatziantoniou S, Demetzos C. Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of Liposome Research*, 2008, 18, 309-327.

Muñoz M, Laso-Morales MJ, Gómez-Ramírez S, Cladellas M, Nuñez-Matas MJ, Garcia-Erce JA. Pre-operative hemoglobin levels and iron status in a large multucentre cohort of patients undergoing major elective surgery. *Anaesthesia*, 2017, 72, 826-834.

Muñoz M, Gómez-Ramírez S, Bhandari S. The safety of available treatment options for iron-deficiency anemia. *Expert Opinion on Drug Safety*, 2018, 17, 149-159.

Određivanje kompletne krvne slike, [www.placebo.hr](http://www.placebo.hr), pristupljeno 04.03.2019.

Parisi F, Fuse F, Brunetti M, Mazzocco M, Berti C, Cetin I. Effects of Different Regimens of Iron Supplementation on Iron Status and Pregnancy Outcomes in a Cohort of Healthy Pregnant Women: A Randomized Control Trial. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 2017, 30, 1787-1792.

Pisani A, Riccio E, Sabbatini M, Andreucci M, Del Rio S, Visciano B. Effect of oral liposomal iron versus intravenous iron for treatment of iron deficiency anaemia in CKD patients: A randomized trial. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2015, 30, 645-652.

Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Czekand JGF, Coats AJS, Falk V, Gonzalez-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA i suradnici. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 2016, 37, 2129-2200.

Ragozzino G, Riccio A, Mattera E. Effectiveness of oral liposomal iron (Sideral®Forte) in patients with intestinal malabsorption (Celiac disease and gluten sensitivity). *Expert Review of Hematology*, 2015, 8, 21-22.

Sabbatini G, Bonfitto F. Effectiveness of two different dosage regimes of Sideral®Forte in anemic patients with solid tumor. *Expert Review of Hematology*, 2017, 10, 24-25.

Santiago P. Ferrous versus ferric oral iron formulations for the treatment of iron deficiency: A clinical overview. *The Scientific World Journal*, 2012, 2012, 846824.

Scardino M, Di Matteo B, Martorelli F, Tanzi D, Kon E, D'Amato T. Improved patient blood management and cost saving in hip replavcement surgery through the implementation of pre-operative Sucrosomial<sup>®</sup> iron supplementation: A quality improvement ssesment study. *International Orthopaediys*, 2018, 43, 39-46.

Shipton M, Johal N, Dutta N, Ahmed B, Ammori B, Senapati SP, Akhtar K, Summers L, New J, Syed A. Deficiencies of vitamin B12, folate and iron over 4 years of follow-up post-bariatric surgery. *British Journal of Surgery*, 2018, 105, 28.

Smjernice za primjenu krvi i krvnih pripravaka u kliničkoj medicini, [www.zdravstvo-kvaliteta.org](http://www.zdravstvo-kvaliteta.org), pristupljeno 15.03.2019.

Starzynski R, Szudzik M, Staron R, Jonczy A, Smuda E, Pieszka N, Kamyczek M, Lipinski P. Comparison of the therapeutical potential of oral Sucrosomial<sup>®</sup> iron and parenteral iron dextran supplementations in neonatal iron deficiency anemia in pigs. *American Journal of Hematology*, 2017, 92, 286.

Vanić Ž. Liposomi kao nosači lijekova: strukturna svojstva i klasifikacija. *Farmaceutski glasnik*, 2012a, 68, 391-400.

Vanić Ž. Liposomi kao nosači lijekova: metode priprave. *Farmaceutski glasnik*, 2012b, 68, 457-466.

## 7. SAŽETAK

Deficit željeza najčešći je nutritivni poremećaj u svijetu, koji posljedično dovodi do razvoja sideropenične anemije. Procjenjuje se da oko 25% ukupne populacije boluje od sideropenične anemije, a najrizičnije skupine su predškolska djeca i žene reproduktivne dobi. Uobičajena terapija sideropenične anemije može biti peroralna ili parenteralna, ali oba tipa primjene imaju visoku incidenciju nuspojava i time nisku stopu suradljivosti pacijenata. Stoga se pokušavaju pronaći nove terapijske mogućnosti prevencije i liječenja deficita željeza i sideropenične anemije, a jedna od njih je i primjena peroralnih suplemenata liposomskog željeza. Uklapanje željeza u liposome rezultiralo je boljom apsorpcijom, postupnim oslobađanjem željeza i smanjenom incidencijom nuspojava budući da je izbjegnuta direktan kontakt željeza s gastrointestinalnom sluznicom. Ovaj rad donosi pregled primjene istraživanja i kliničke primjene liposomskog željeza u peroralnoj terapiji prevencije i liječenja deficita željeza i sideropenične anemije.

## **8. SUMMARY**

Iron deficiency is one of the most frequent health problem, which leads to iron deficiency anemia. It is estimated that approximately one third of the global population is affected by anemia. Iron deficiency anemia is commonly treated either with oral iron salts formulations or intravenous iron formulations, but there is a high risk of side effects leading to reduced treatment compliance. The use of liposomes as iron nanocarriers represents an innovative approach for oral iron therapy which improves iron bioavailability, enables its gradual release and reduces adverse side effects. This thesis provides an overview of investigations performed with liposomal iron and its clinical use as oral therapy in the prevention and treatment of iron deficiency anemia.

## 9. PRILOZI

Privole izdavača za objavljivanje slika i tablica u diplomskom radu nalaze se na sljedećim poveznicama:

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=00815835-08a9-498e-81cc-d4856605cea8>

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=798903a2-a521-47ec-b4e2-54548e21db58>

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=f1483561-95f1-4e83-94f8-1c91c2d5967f>

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=edb4fffe-f3f8-46b7-a616-d8ac7a5c1e68>

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=443411af-d2cc-4235-a9bd-6565265326b6>

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=dd6ddd2d-d786-4d3f-968f-f0fbab8c74c>

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=9d5c2791-b9f8-49e9-aedf-8a897c2c246a>

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=7ae1cde9-87e3-4373-8d57-aba42a507f82>

<https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet#formTop>



## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Zavod za Farmaceutsku tehnologiju  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### Liposomi u liječenju sideropenične anemije

**Ana Baburić**

Deficit željeza najčešći je nutritivni poremećaj u svijetu, koji posljedično dovodi do razvoja sideropenične anemije. Procjenjuje se da oko 25% ukupne populacije boluje od sideropenične anemije, a najrizičnije skupine su predškolska djeca i žene reproduktivne dobi. Uobičajena terapija sideropenične anemije može biti peroralna ili parenteralna, ali oba tipa primjene imaju visoku incidenciju nuspojava i time nisku stopu suradljivosti pacijenata. S obzirom na to, pokušavaju se pronaći nove terapijske mogućnosti prevencije i liječenja deficita željeza i sideropenične anemije, a jedna od njih je i primjena peroralnih suplemenata liposomskog željeza. Uklapanje željeza u liposome rezultiralo je boljom apsorpcijom, postupnim oslobađanjem željeza i smanjenom incidencijom nuspojava budući da je izbjegnuta direktan kontakt željeza s gastrointestinalnom sluznicom. Ovaj rad donosi pregled primjene istraživanja i kliničke primjene liposomskog željeza u peroralnoj terapiji prevencije i liječenja deficita željeza i sideropenične anemije.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 51 stranica, 12 grafičkih prikaza, 8 tablica i 40 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: liposomi, željezo, anemija, oralna primjena, klinička primjena, Sukrosomialno® željezo

Mentor: **Dr. sc. Željka Vanić**, *izvanredna profesorica* Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Željka Vanić**, *izvanredna profesorica* Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, *izvanredna profesorica* Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Roberta Petlevski**, *izvanredna profesorica* Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: srpanj 2019.

## Basis documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Department of Pharmaceutical Technology  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### Liposomes for the treatment of iron deficiency anemia

**Ana Baburić**

Iron deficiency is one of the most frequent health problems in the world which leads to iron deficiency anemia. It is estimated that up to one third of the global population is affected. Iron deficiency anemia is usually treated either with oral iron salts or intravenous iron formulations but there is a high risk of side effects leading to reduced treatment compliance. The use of liposomes as carriers represents innovative oral iron therapy which improves iron bioavailability, enables iron to be gradually released and reduces negative effects. This thesis provides an overview of research and clinical use of liposomal iron formulations as oral therapy in prevention and treatment of iron deficiency and anemia.

This thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 51 pages, 12 figures, 8 tables and 40 references. Original is in Croatian language.

Keywords: liposomes, iron, anemia, oral drug formulations, clinical use, Sucrosomial® iron

Mentor: **Željka Vanić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Željka Vanić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.**, *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Roberta Petlevski, Ph.D.**, *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

This thesis was accepted: July 2019.