

# Rezistencija na antimalarike u infekciji Plasmodium falciparum

---

**Grgić, Borna**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:596803>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-07**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Borna Grgić**

**Rezistencija na antimalarike u infekciji**

***Plasmodium falciparum***

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2022.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Josipa Begovca, dr.med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

## POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA

ACE2 – angiotenzin-konvertirajući enzim 2

ACPR – adekvatan klinički i parazitološki odgovor (eng. *adequate clinical and parasitological response*)

ACT – kombinirana terapija bazirana na artemizininu (eng. *artemisinin-based combination therapy, ACT*)

AL – artemeter-lumefantrin

ARDS – akutni respiratorni distresni sindrom

AS+SP – artezunat+sulfadoksin-pirimetamin

AS-AQ – artezunat-amodiakvin

AS-MQ – artezunat-meflokin

AS-PY – artezunat-pironaridin

CM – cerebralna malarija

CQ – klorokin

DHA-PQ – dihidroartemizinin-piperakin

DHFR – dihidrofolat reduktaza

DHPS – dihidropteroat sintaza

EEG – elektroencefalogram

EIS – entomološka inokulacijska stopa

ELISA – (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*)

ETF – rani terapijski neuspjeh (eng. *early treatment failure*)

IC<sub>50</sub> – inhibitorna koncentracija lijeka koja smanjuje rast plazmodija za 50%

ICAM-1 – intercelularna adhezijska molekula-1

IPTi – intermitentno preventivno liječenje u dojenčadi (eng. *intermittent preventive treatment in infants*)

IPTp – intermitentno preventivno liječenje trudnica (eng. *intermittent preventive treatment for pregnant women*)

KHARP – histidinom bogati protein povezan sa stvaranjem „dugmadi“ (eng. *knob-associated histidine-rich protein*)

LCF – kasni klinički neuspjeh (eng. *late clinical failure*)

LPF – kasni parazitološki neuspjeh (eng. *late parasitological failure*)

MDA – primjena više lijekova, u svrhu kemoprofilakse (eng. *multidrug administration*)

PCR – lančana reakcija polimeraze (eng. *polymerase chain reaction*)

PfCRT – transporter *P. falciparum* povezan s rezistencijom na klorokin (eng. *Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter*)

PfEMP1 – eng. *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1*

PfEMP2 – eng. *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein-2*

PfHRP-2 – histidinom bogati antigeni 2 *P. falciparum*

PfK13 – Kelch 13 protein *P. falciparum*

PfMDR1 – protein *P. falciparum* povezan s multirezistencijom na lijekove 1 (eng. *P. falciparum multidrug resistance 1*)

PfMRP – protein *P. falciparum* povezan s rezistencijom na više lijekova (eng. *Plasmodium falciparum multidrug resistance-associated protein*)

PfPR – godišnja stopa incidencije *P. falciparum* (eng. *Plasmodium falciparum parasite rate*)

PfRh5 – retikulocitni membranski protein 5

PI3K – fosfatidilinozitol-3-kinaza

PI3P – fosfatidilinozitol-3-fosfat

pLDH – plazmodijska laktat dehidrogenaza

RDT – brzi dijagnostički test (eng. *rapid diagnostic test*)

RSA – (eng. *ring-stage survival assay*)

SMA – teška anemija u malariji (eng. *severe malarial anemia*)

SMC – sezonalna kemoterapija malarije (eng. *seasonal malaria chemotherapy*)

SP – sulfadoksin-pirimetamin

SZO – Svjetska zdravstvena organizacija

TES – istraživanje terapijskog učinka (eng. *therapeutic efficacy study*)

TLR-9 – (eng. *Toll-like-receptor-9*)

# SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD.....	1
2. MALARIJA – globalna parazitarna bolest.....	2
2.1. Epidemiologija <i>P. falciparum</i> malarije.....	3
2.2. Patogeneza <i>P. falciparum</i> malarije.....	4
2.2.1. Životni ciklus <i>P. falciparum</i> .....	4
2.2.2. Molekularna biologija i patofiziološke promjene.....	6
2.3. Kliničke manifestacije <i>P. falciparum</i> malarije.....	8
2.3.1. Nekomplicirana malarija.....	9
2.3.2. Komplicirana malarija.....	9
2.4. Dijagnostika <i>P. falciparum</i> malarije.....	13
2.4.1. Svjetlosna mikroskopija.....	13
2.4.2. Brzi dijagnostički testovi.....	14
3. LIJEČENJE MALARIJE UZROKOVANE <i>P. falciparum</i> .....	15
3.1. Liječenje nekomplicirane <i>falciparum</i> -malarije.....	15
3.2. Liječenje teške, komplicirane <i>falciparum</i> -malarije.....	16
4. REZISTENCIJA NA ANTIMALARIKE – stalni problem u borbi protiv malarije ...	18
4.1. Definicija rezistencije na antimalarike.....	19
4.2. Molekularni mehanizmi rezistencije na antimalarike.....	19
4.2.1. Rezistencija na derivate kinolina.....	19
4.2.2. Rezistencija na antifolate.....	22
4.2.3. Rezistencija na artemizinin i njegove derivate.....	23
4.3. Epidemiologija i širenje rezistencije na antimalarike.....	25
4.4. Načini detekcije rezistencije na antimalarike.....	28
4.4.1. <i>In vivo</i> metode detekcije rezistencije.....	28
4.4.2. <i>In vitro</i> metode detekcije rezistencije.....	32
4.4.3. Molekularne metode detekcije rezistencije.....	34
4.5. Učinkovitost liječenja antimalaricima danas.....	34
4.6. Sprječavanje rezistencije na antimalarike.....	36
4.6.1. Praćenje učinkovitosti liječenja i rezistencije.....	36
4.6.2. Smanjenje selektivnog pritiska lijekovima.....	36

4.6.3.	Korištenje kombinacije lijekova u liječenju .....	37
4.6.4.	Regulacija kvalitete antimalarika.....	38
4.6.5.	Sprječavanje širenja rezistentnih sojeva plazmodija .....	38
5.	ZAKLJUČAK .....	40
6.	ZAHVALE.....	41
7.	LITERATURA.....	42
8.	ŽIVOTOPIS.....	50

## **Rezistencija na antimalarike u infekciji *Plasmodium falciparum***

**Borna Grgić**

### SAŽETAK

Malarija je važna parazitarna bolest koja unatoč velikim naporima da se stavi pod kontrolu i dalje predstavlja globalni javnozdravstveni problem. U eri globalizacije u kojoj putovanja u egzotične krajeve više nisu nepoznanica, krajevi u kojima je malarija endemska približeni su ostatku populacije više nego ikad. Prema procjenama Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) upravo je u tim područjima u 2020. godini bio 241 milijun slučajeva zaraze. Većinu slučajeva malarije uzrokuje *Plasmodium falciparum*. On je ujedno odgovoran i za teže kliničke slike pa time i veći broj smrtnih slučajeva. Iako je malarija izlječiva bolest, u endemskim krajevima svijeta ljudi i dalje umiru od nje. Procjenjuje se da je samo u 2020. umrlo oko 627 000 ljudi. Danas su razvijeni brojni protokoli liječenja infekcije *P. falciparum* temeljeni na epidemiološkim i parazitološkim podacima relevantnim za pojedini dio svijeta. Od uvođenja prvih antimalarika u 20. stoljeću pa do razvoja onih koje koristimo danas, *P. falciparum* je stvarao rezistenciju na brojne od njih. To je značilo da su i smjernice za liječenje *falciparum*-malarije morale ići ukorak s razvojem rezistencije. Suvremeni napredak znanosti i metoda istraživanja te rezistencije omogućuje da barem donekle razumijemo zašto i kako je do rezistencije došlo. Međutim, i dalje na neka pitanja nemamo konkretne i jasne odgovore, već smo i dalje ostali na hipotezama. Borba protiv rezistencije na antimalarike od velike je važnosti za nastavak uspješnog liječenja ove bolesti pa je cilj ovoga rada pobliže prikazati problematiku iste.

Ključne riječi: malarija, *P. falciparum*, antimalarici, rezistencija, liječenje



## **Antimalarial drug resistance in *Plasmodium falciparum* infection**

**Borna Grgić**

### SUMMARY

Malaria is an important parasitic disease that, despite great efforts to bring it under control, continues to represent a global public health problem. In an era of globalization where travel to exotic places is no longer unknown, places where malaria is endemic are closer to the rest of the population than ever. According to estimates by the World Health Organization (WHO), 241 million people were infected in these areas in 2020. Most cases of malaria are caused by *Plasmodium falciparum*. It is also responsible for more severe clinical symptoms and thus a higher number of deaths. Although malaria is a curable disease, people still die from it in endemic areas of the world. An estimated 627,000 people died in 2020 alone. Today, numerous treatment protocols for *P. falciparum* infection have been developed based on epidemiological and parasitological data relevant to a particular part of the world. From the introduction of the first antimalarials in the 20th century until the development of the ones we use today, *P. falciparum* has developed resistance to many of them. This meant that the guidelines for the treatment of *falciparum*-malaria had to keep pace with the development of resistance. The modern progress of science and methods of research of this resistance allows us to understand, at least to some extent, why and how resistance occurred. However, we still do not have concrete and clear answers to some questions and we are still left with hypotheses. The fight against resistance to antimalarials is of great importance for the continuation of the successful treatment of this disease, so the aim of this paper is to present the issue in more detail.

Key words: malaria, *P. falciparum*, antimalarial drugs, resistance, treatment



# 1. UVOD

Rezistencija na lijekove protiv malarije pokazala se kao jedan od najvećih izazova s kojima se danas suočava kontrola ove bolesti. Otpornost na lijekove ne samo da je pridonijela širenju malarije na nova područja, već i ponovnoj pojavi malarije u područjima gdje je bolest bila iskorijenjena. Također je odigrala značajnu ulogu u pojavi i težini epidemija u nekim dijelovima svijeta. Kretanje stanovništva donijelo je rezistentne sojeve parazita u one dijelove svijeta u kojima rezistencija na antimalarike do tada nije bila zabilježena. Dodatan problem je da ekonomiju razvoja novih lijekova za tropske bolesti, uključujući i malariju, karakterizira veliki nesrazmjer između javnozdravstvene važnosti bolesti i količine resursa uložениh u razvoj novih lijekova (1,2). Ovaj nesklad se nažalost, javlja u vrijeme kada paraziti malarije već pokazuju određenu razinu otpornosti na gotovo sve lijekove protiv malarije koji su trenutno dostupni, značajno povećavajući troškove i složenost postizanja parazitološkog izlječenja (3).

Kako bi se pobliže razumjela tema rezistencije na antimalarike, u ovom radu će biti riječi i o samoj malariji koju uzrokuje *P. falciparum* i dosadašnjim spoznajama o istoj, jer je rezistencija usko povezana sa životnim ciklusom *P. falciparum* te patofiziologijom bolesti.

## 2. MALARIJA – globalna parazitarna bolest

Premda je poznata još od doba Hipokrata, malarija je i dan danas najvažnija parazitarna bolest u ljudi (4). Endemska je u 85 zemalja svijeta, najviše tropskog i suptropskog područja. Procjenjuje se da je upravo u tim područjima u 2020. godini bio 241 milijun slučajeva zaraze s incidencijom od 59:1000 stanovnika. Daleko najviše (95%) zabilježenih slučajeva otpada na afričko područje Svjetske zdravstvene organizacije (SZO). Usprkos tome što je malarija izlječiva bolest, od nje je u 2020. umrlo oko 627 000 ljudi, ponajviše djece u dobi manjoj od 5 godina (5).

Malariju u ljudi uzrokuje 5 vrsta plazmodija, jednostaničnih krvno-tkivnih protozoa, a to su: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* i *Plasmodium knowlesi* (6). Za većinu slučajeva malarije odgovorni su *P. falciparum* i *P. vivax*. Teže kliničke slike, a time i veći broj smrtnih slučajeva uzrokuje upravo *P. falciparum* koji se smatra „najmoćnijim ubojicom među parazitima“ (4,7).

Uzročnika malarije prenose ženke komaraca iz roda *Anopheles* koje se hrane noću, odnosno od sumraka do zore, i naseljavaju nadmorske visine manje od 1500 metara (8). U neendemskim područjima svijeta također ima mnogo komaraca iz roda *Anopheles*, zbog čega je moguć prijenos plazmodija iz krvi putnika zaraženog parazitom koji se vratio s putovanja u endemske krajeve svijeta. Takvih parazitonoša se godišnje u Europi i Americi otkrije i do nekoliko tisuća. Poseban oblik malarije je tzv. aerodromska, odnosno lučka malarija koja se javlja u stanovnika koji žive uz zračne ili brodske luke preko komaraca koji su slučajno došli avionom ili brodom iz endemskih krajeva (6).

Ostali rjeđi načini prijenosa su kongenitalni prijenos uzročnika s majke na dijete, transplantacijom organa, transfuzijom krvi, dijeljenjem kontaminiranih igala među intravenskim korisnicima te nozokomijalni prijenos (9,10).

## **2.1. Epidemiologija *P. falciparum* malarije**

Rasprostranjenost malarije poglavito ovisi o klimatskim čimbenicima (poput temperature, vlažnosti i kišnih padalina), koji utječu na raširenost *Anopheles* komaraca. Preživljavanje komaraca uvjetuje i mogućnost plazmodija da dovrše svoj životni ciklus u komarcu. Osobito bitnu ulogu u rasprostranjenosti *P. falciparum* malarije ima temperatura, jer na temperaturama nižim od 20°C plazmodij ne može preživjeti čitav životni ciklus u komarcu te se zbog toga ne može niti prenijeti na čovjeka (11).

Intenzitet prijenosa plazmodija izražava se entomološkom inokulacijskom stopom (EIS). Ona je definirana brojem uboda zaraženih komaraca kojemu je pojedini čovjek izložen tijekom godinu dana. Ako je EIS <10/godina govorimo o području niskog prijenosa. Područje umjerenog prijenosa označava EIS 10-49/godina, a područje visokog prijenosa definira EIS  $\geq$  50/godina (12). Područja s visokom EIS imaju tzv. „stabilnu malariju“ pa simptomatsku infekciju razvijaju najčešće djeca mlađa od 5 godina, dok odrasli imaju određenu razinu imunosti. Iznimku čine trudnice, koje su uz djecu također rizična skupina zbog smanjenja spomenute imunosti. Za razliku od toga, za područja s niskom EIS kažemo da imaju tzv. „nestabilnu malariju“ gdje zbog nerazvijanja imunosti podjednako obolijevaju i djeca i odrasli (4).

*P. falciparum* predomira u tropskim i suptropskim krajevima svijeta, s najvećom rasprostranjenošću u središnjoj i supsaharskoj Africi, Mozambiku, Madagaskaru te

Novoj Gvineji gdje je godišnja stopa incidencije *P. falciparum* (eng. *Plasmodium falciparum parasite rate*, PfPR) >40%. Područja s takvom PfPR predstavljaju područja visokog rizika „stabilne malarije“. Dijelovi Srednje i Južne Amerike, indijskog potkontinenta, jugoistočne Azije te Oceanije predstavljaju područja manjeg rizika „stabilne malarije“ sa PfPR ≤5% (13).

## **2.2. Patogeneza *P. falciparum* malarije**

### **2.2.1. Životni ciklus *P. falciparum***

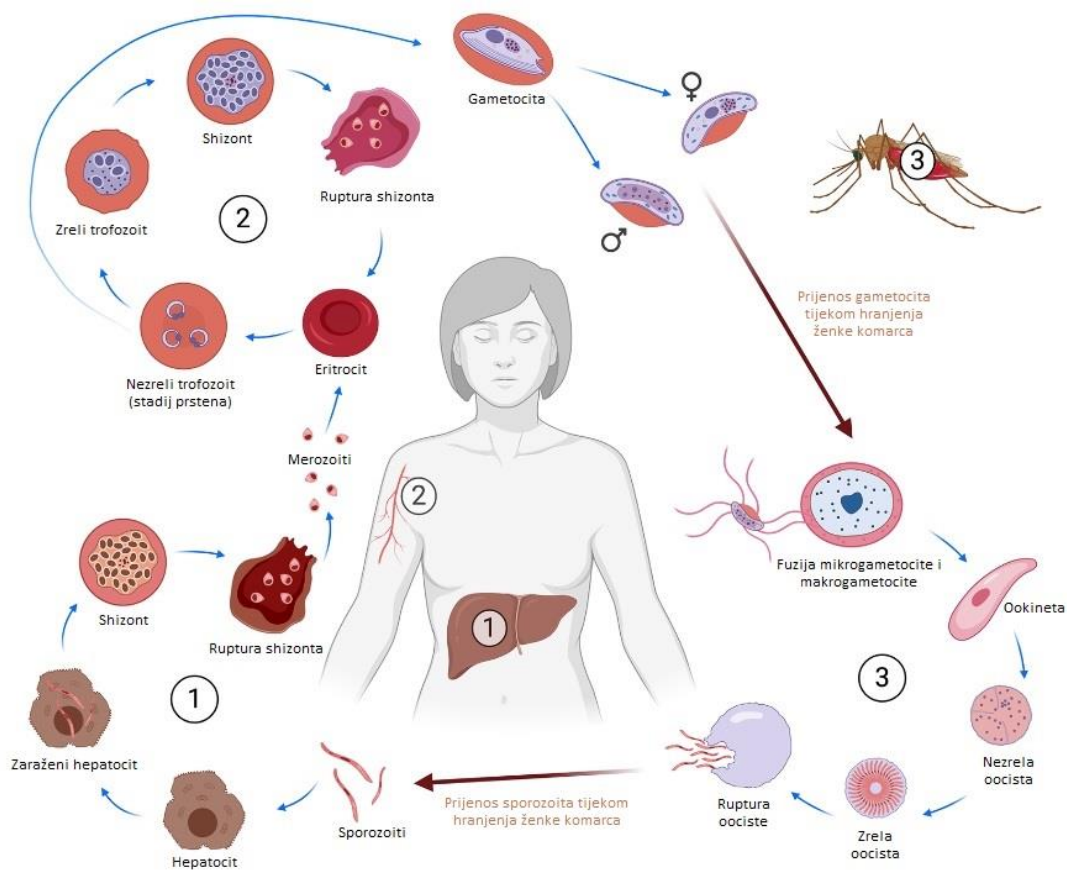
Životni ciklus plazmodija uključuje izmjenu spolnog ciklusa u ženki *Anopheles* komarca i nespolnog ciklusa u čovjeka (slika 1.) (14).

Infekcija u ljudi započinje kada se tijekom hranjenja ženke komarca sporozoiti plazmodija inokuliraju u potkožno tkivo domaćina. Oni se nalaze u žlijezdama slinovnicama ženke, a injiciraju se dok ona rilom traži vaskularni prostor prije aspiracije krvi. Sporozoiti se aktivno kreću kroz tkivo ključnim gibanjem te za nekoliko sati ulaze u cirkulaciju direktno ili preko limfnih žila . Nakon što se oko 20 minuta zadrže u krvi, brzo se usmjeravaju prema jetrenim stanicama. Svaki sporozoit ulazi u hepatocit i unutar njegove vakuole započinje tzv. prederitocitnu odnosno jetrenu fazu nespolnog razvoja. Tijekom nje sporozoiti sazrijevaju u shizonte koji se zatim razmnožavaju shizogonijom. Za *P. falciparum* ova faza traje 5-6 dana. Nakon toga dolazi do ruptуре shizonta pri čemu se 10 000 do 30 000 merozoita oslobađa u cirkulaciju, a zatim vrlo brzo ulazi u eritrocite (15,16). Sam proces vezanja merozoita i invazije eritrocita složen je događaj koji se sastoji od niza koordiniranih događaja koji se odvijaju unutar 2-3

minute. Uz brojne druge receptore i ligande na površinama parazita i eritrocita, za samu invaziju je možda najvažniji retikulocitni membranski protein PfRh5 koji se veže s basiginom (CD147 receptorom) na površini eritrocita (17).

Ulaskom u eritrocit započinje eritrocitna, tj. krvna faza nespolnog razvoja parazita, koja za *P. falciparum* traje oko 48 h. Parazit se smješta unutar vakuole eritrocita i tijekom prvih 12 sati razvoja u eritrocitu stvaraju se prstenasti oblici, tj. mladi (nezreli) trofozoiti koji imaju oblik poput „slušalica koje stavljamo na glavu“ (4). Daljnjim razvojem mladi trofozoit počinje rasti trošeći za svoj razvoj sadržaj eritrocita, ponajprije hemoglobin. Proteolizom hemoglobina plazmodij troši oslobođene aminokiseline, dok preostali hem, čiji su oksidativni oblici za njega toksični, procesom biokristalizacije pretvara u netopljivi i kemijski inertni hemozoin (18). Mladi trofozoit raste u zreli trofozoit, a zatim prolazi kroz nekoliko dioba jezgre i citoplazme, što nazivamo eritrocitnom shizogonijom. Njome ponovno nastaje shizont sa 10-16 merozoita koji uzrokuje rupturu eritrocita te oslobađanje merozoita u cirkulaciju. Oslobođeni merozoiti vrlo kratko slobodno kolaju krvlju da bi naposljetku ponovno invadirali nove eritrocite u kojima se ova faza ciklusa ponavlja (4,6).

Neki se pak merozoiti diferenciraju u spolne stanice – gametocite koje ostaju u krvi 2-3 dana i čekaju novo hranjenje ženke komarca u kojoj će započeti spolna faza životnog ciklusa plazmodija. U želudcu komarca gametocite se pretvaraju u mikrogametocite i makrogematocite čijim spajanjem nastaje zigota. Iz zigote nastaje ookinet koji prelazi u oocistu. Unutar oociste diobom se stvara velik broj sporozoita koji uzrokuju povećanje oociste i u konačnici njezinu rupturu. Tako sporozoiti dopijevaju u tjelesnu šupljinu komarca, gdje dozrijevaju nekoliko dana do tri tjedna. Zatim migriraju do slinovnica komarca, zatvarajući tako životni ciklus plazmodija (19).



Slika 1. Životni ciklus *P. falciparum* uz sažet prikaz jetrene (1) i eritrocitne (2) faze te spolne faze razvoja u ženki *Anopheles* komarca (3).  
 Prema: Slater et al., 2021; uz dopuštenje izdavača Elseviera.

## 2.2.2. Molekularna biologija i patofiziološke promjene

U patofiziološkoj podlozi malarije nalaze se promjena i destrukcija eritrocita, oslobađanje parazita i eritrocitnog materijala u cirkulaciju, endotelna disfunkcija te imunološki odgovor domaćina na spomenute procese (15).

Glavne promjene koje se događaju u zaraženim crvenim krvnim stanicama su stvaranje kuglastih izbočina, tzv. „dugmadi“ (eng. *knob*) koje služe kao mjesta vezanja za vaskularni endotel. KHARP (eng. *knob-associated histidine-rich protein*) i PfEMP2 (eng. *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein-2*) su jedni od nekoliko proteina, čija je funkcija reorganizacija citoskeleta uz membranu eritrocita i na taj način



formacija kuglastih izbočina (19). Tijekom prvih 16 sati od invazije eritrocita u području kuglastih izbočina na površini eritrocita pojavljuje se specifični membranski protein PfEMP1 (eng. *Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1*) koji je unutar kuglaste izbočine usidren za KHARP. PfEMP1 funkcionira kao ligand za nekoliko receptora (20). Među tim receptorima je za malariju uzrokovanu *P. falciparum* patofiziološki najznačajnija intercelularna adhezijska molekula-1 (ICAM-1) na endotelu moždanih krvnih žila, koja je glavni receptor sekvestracije i služi kao početno mjesto kotrljanja zaraženih eritrocita (21,22). Od ostalih receptora u organizmu za koje se PfEMP1 veže valja izdvojiti i CD36, trombospondin te EPCR (eng. *endothelial protein C receptor*) (23).

Sekvestracija označava vezanje zaraženih eritrocita za mikrovaskularni endotel i tako posljedično nestajanje plazmodija iz cirkulacije. Kada jednom adheriraju za endotel, zaražene crvene krvne stanice se ne vraćaju u cirkulaciju, već ostaju vezane do pucanja tijekom shizogonije. Kao posljedica toga, dok se u malariji uzrokovanj drugim vrstama plazmodija u razmazima krvi mogu vidjeti zreli oblici, oni su u *falciparum*-malariji rijetki i često su znak ozbiljne infekcije (15).

Pored sekvestracije, za patofiziologiju *P. falciparum* značajno je i formiranje „rozeta“. Naime, dolazi do vezanja nezaraženih eritrocita za one zaražene, ponovno posredstvom PfEMP1. On se veže za receptor komplementa 1 (CR-1), heparin sulfat (HS) te ABO antigene krvne grupe na površini eritrocita (24,25). Pritom se osobito jako veže za krvni antigen A. Iz toga razloga u ljudi krvne grupe O primijećena je određena zaštita od životno ugrožavajuće *falciparum*-malarije koja počiva na manjoj sklonosti formiranja „rozeta“ u mikrocirkulaciji (26).

Ruptura eritrocita do koje dolazi uslijed rasta eritrocitnog shizonta dovodi do oslobađanja razgradnih produkata eritrocita i hemozoina. Oni aktiviraju makrofage i

endotelne stanice na lučenje citokina i upalnih medijatora koji su zaslužni za sistemske manifestacije malarije poput vrućice (27,28). Indukciji vrućice pridonosi i plazmodijska DNA koja interakcijom s TLR-9 (eng. *Toll-like-receptor-9*) potiče ciklooksigenazu 2 na stvaranje prostaglandina (29,30).

Hemozoin je uz svoj već objašnjeni piretički učinak povezan i s indukcijom apoptoze eritroidnih stanica koje se razvijaju u koštanoj srži i tako posreduje u nastanku anemije (31,32).

### **2.3. Kliničke manifestacije *P. falciparum* malarije**

U većini slučajeva, vrijeme inkubacije za *P. falciparum* je 12-14 dana, a većina infekcija postane klinički vidljivo unutar mjesec dana od izlaganja uzročniku. Dulji inkubacijski period moguć je kod neimunih pojedinaca ili osoba koje putuju u endemska područja, a ne uzimaju nikakvu ili pak nedovoljno učinkovitu kemoprofilaksu (33). Na malariju svakako treba posumnjati u svakog bolesnika s febrilitetom koji u epidemiološkoj anamnezi ima posjet krajevima u kojima je malarija endemska (34).

Infekcija *P. falciparum* općenito ima relativno blagi tijek ukoliko se na vrijeme započne s primjerenim liječenjem (14). U usporedbi s drugim uzročnicima malarije, *P. falciparum* invadira eritrocite neovisno o njihovoj starosti pa tako može uzrokovati visoku parazitemiju (35). Uz to, mehanizam sekvestracije svojevrsan je samo za *P. falciparum*. Premda i *P. vivax* i *P. ovale* imaju sposobnost formiranja rozeta, samo one uzrokovane infekcijom *P. falciparum* povezane su s teškom malarijom (36). Stoga bez prikladne terapije malarija uzrokovana *P. falciparum* može biti životno ugrožavajuća, osobito u mlađe djece i neimunih odraslih (ponajprije trudnica) (14).

Razlikujemo nekompliciranu i tešku, kompliciranu malariju.

### **2.3.1. Nekomplicirana malarija**

Nekomplicirana malarija očituje se pojavom nespecifičnih simptoma: glavobolje, malaksalosti, mialgija. Nakon toga slijedi pojava febrilnih paroksizama. Za njih je karakterističan nagli početak febriliteta, nerijetko preko 40°C, praćen tresavicama. Bolesnici mogu biti nemirni, razdražljivi, a mogu se javiti i mučnina i povraćanje. Kod infekcije *P. falciparum* pojava paroksizama je često nepravilna, a vrućica nerijetko ostaje konstantna. Tahikardija i tahipneja, kao i poremećaj svijesti također mogu biti prisutni (4,33).

U većine bolesnika laboratorijski se nađu anemija i trombocitopenija, a u neimunih osoba nakon nekoliko dana javlja se splenomegalija.

Ukoliko se liječenje nekomplicirane malarije ne započne na vrijeme učinkovitim antimalaricima može se razviti teška, komplicirana malarija (4).

### **2.3.2. Komplicirana malarija**

Komplicirana *P. falciparum* malarija je ozbiljna multisistemska bolest, čija patofiziologija počiva na mikrovaskularnoj opstrukciji uslijed sekvestracije i agregacije eritrocita u brojnim vitalnim organima poput mozga, pluća, bubrega i srca (14,19). Glavne komplikacije su cerebralna malarija, akutno bubrežno zatajenje, acidoza i hipoglikemija, akutni respiratorni distresni sindrom i teška anemija. Ako se razvije bilo koja od ovih komplikacija, može brzo progredirati do smrti čak unutar nekoliko sati do

dana. Moguća je i istovremena pojava više komplikacija ili jedna prethoditi drugoj u razmaku od samo nekoliko sati. (37)

### **2.3.2.1. Cerebralna malarija**

Cerebralna malarija (CM) je najčešća klinička prezentacija teške komplicirane malarije te ujedno i najčešći uzrok smrti u bolesnika s teškom malarijom (37). Definirana je kao teška malarija komplicirana komom uz prisutnost *P. falciparum* parazitemije u slučajevima kada su drugi uzroci encefalopatije isključeni (npr. hipoglikemija, bakterijski meningitis, virusni encefalitis). Faktori rizika za CM uključuju dob (djeca i stariji odrasli su podložniji), trudnoću, pothranjenost, HIV infekciju te aspleniju (38–41). Može se javiti postupno ili naglo nakon konvulzija. Ukočenost vrata i fotofobija su odsutni, a u EEG-u se ne javljaju specifične promjene (14,37). Pregledom fundusa mogu se pronaći krvarenja retine (42). Većina odraslih osoba, za razliku od djece, nema radiološki nalaz moždanog edema (4). Znakove CM treba monitorirati i promptno tretirati, jer ona može brzo progredirati do kome i smrti. Ukoliko je neliječena, gotovo uvijek je fatalna. Uz liječenje, mortalitet CM je između 15 i 20% (43). Neurološke sekvele češće su u djece (15%), nego u odraslih (3%), a mogu uključivati hemiplegiju, sljepoću, naglušost, epilepsiju te kognitivne poremećaje (44).

### **2.3.2.2. Akutno bubrežno zatajenje**

Akutna bubrežna insuficijencija je česta komplikacija *P. falciparum* malarije u odraslih, dok je u djece vrlo rijetka (45). Premda je patogeneza akutnog bubrežnog zatajenja nejasna, povezuje ju se sa sekvestracijom eritrocita u bubrežnoj cirkulaciji. Drugi potencijalni čimbenici su i hipovolemija te hemoliza (46).

Obično se prezentira oligurijom ili anurijom te azotemijom (37). Zatajenje bubrega u teškoj malariji ima lošu prognozu (smrtnost oko 45%), ukoliko se što prije ne započne s dijalizom ili hemofiltracijom. U tom slučaju bubrežna funkcija se u bolesnika oporavi kroz 1-2 tjedna (14).

### **2.3.2.3. Acidoza i hipoglikemija**

U teškoj malariji može doći do razvoja laktične acidoze u organizmu i to zbog nekoliko razloga. U tkivima gdje sekvstrirani paraziti onemogućuju normalan protok u mikrocirkulaciji dolazi do anaerobne glikolize, a određene količine laktata stvaraju i sami paraziti. Ta dva čimbenika, udružena sa smanjenim klirensom laktata uslijed poremećene jetrene i bubrežne funkcije dovode do porasta laktata u plazmi (>5 mmol/L) i razvoja acidoze (pH<7,3). Upravo je koncentracija laktata ili bikarbonata u plazmi najbolji prognostički znak teške malarije. Prognoza teške acidoze je loša i uzrok je respiratornom zatajenju, čak i uz potporu disanju, osobito u djece (4,14).

Hiperlaktatemija u teškoj malariji često je udružena s hipoglikemijom (4). Uobičajeni znakovi hipoglikemije poput znojenja, tahikardije i neuroloških poremećaja često se ne mogu razlikovati od sistemskih simptoma uslijed same malarije. Hipoglikemija u malariji javlja se zbog smanjene glukoneogeneze u jetri, smanjenja zaliha glikogena u jetri, povećane potrošnje glukoze u organizmu domaćina, a moguća je i kininima/kinidinima uzrokovana hiperinzulinemija, kojoj su osobito sklone trudnice u kojih je hipoglikemija i češća. Pojava hipoglikemije loš je prognostički faktor te faktor rizika za neurološke sekvele (14,33).

#### **2.3.2.4. Akutni respiratorni distresni sindrom (ARDS)**

U teškoj malariji nekardiogeni plućni edem koji nastaje zbog još nerazješnjene patofiziologije često može biti uzrok akutnog respiratornog distresnog sindroma u bolesnika (33). Ukoliko se ne primijeni uređaj za mehaničku ventilaciju, smrtnost od ARDS-a u teškoj malariji je veća od 80%, dok je uz njegovu primjenu smanjena na oko 50% (4). ARDS može nastati i nakon nekoliko dana od početka liječenja antimalaricima te je potreban oprez, jer brza i velika parenteralna rehidracija može pogoršati edem te biti kobna za bolesnika (33).

#### **2.3.2.5. Teška anemija**

Teška anemija u malariji (eng. *severe malarial anemia* – SMA) povezana je s velikim morbiditetom i mortalitetom u djece i trudnica (47). Nastaje zbog nekoliko preklapajućih mehanizama do kojih dolazi u malariji: 1) destrukcija eritrocita sastavni je dio replikacije parazita, 2) sekvestracija uzrokuje uklanjanje kako zaraženih tako i nezaraženih eritrocita iz cirkulacije, 3) dolazi do hemolize posredovane aktivacijom komplementa ili protutijela, 4) fagociti induciraju apoptozu eritrocita, 5) infekcija uzrokuje diseritropoezu u koštanoj srži, 6) infekcija ubrzava destrukciju eritrocita te smanjuje zalihe željeza (48).

Bolesnici sa SMA u povećanom su riziku od bakterijskih infekcija te HIV infekcije (49,50).

## **2.4. Dijagnostika *P. falciparum* malarije**

Konačna dijagnoza malarije postavlja se u prisutnosti simptoma tipičnih za malariju uz pozitivan jedan od dijagnostičkih testova za malariju. Na raspolaganju su danas svjetlosna mikroskopija te brzi dijagnostički testovi na antigene plazmodija (51).

### **2.4.1. Svjetlosna mikroskopija**

Detekcija plazmodija svjetlosnom mikroskopijom krvnog razmaza bojenim prema Giemsa-Romanovskom zlatni je standard u dijagnostici malarije (52).

Postoje dva načina mikroskopiranja u dijagnostici malarije. Prvi je razmaz periferne krvi kojim se očuva integritet i morfologija eritrocita tako da se u zaraženim crvenim krvnim stanicama može vizualizirati plazmodij. Korist razmaza krvi je indentifikacija vrste plazmodija i mjerenje parazitemije što je bitno o odluci o terapiji. Druga moguća mikroskopska metoda je tzv. gusta kap u kojoj se kap periferne krvi bolesnika posuši i oboji te mikroskopira. Prednost ove metode je veća osjetljivost u odnosu na razmaz krvi. Naime, može se pregledati veći broj eritrocita pa je i koncentracija parazita veća što olakšava dijagnostiku u slučaju niske parazitemije. Nažalost, ovom metodom ne možemo utvrditi o kojoj se vrsti plazmodija radi, a i postupak točnog određivanja parazitemije je kompliciraniji (4).

Visina parazitemije određuje se prema broju aseksualnih formi plazmodija (52). Kod krvnog razmaza procjenjuje se postotkom zaraženih eritrocita, pri čemu treba biti prebrojeno barem 500 eritrocita (53). Za gustu kap broje se aseksualne forme parazita i bijele krvne stanice do broja od 200 bijelih krvnih stanica. Broj stanica po mikrolitru krvi podijeli se s prebrojenih 200 i taj rezultat pomnoži s brojem prebrojenih plazmodija.

Tako dobivamo parazitemiju izraženu u broju parazita po mikrolitru krvi (54). Što je parazitemija veća, to je veća i vjerojatnost za razvoj teške malarije (52). Prema SZO, teška *P. falciparum* malarija odnosi se na hiperparazitemiju (>2% ili 100 000 parazita/ $\mu$ L u područjima niskog prijenosa, odnosno >5% ili 250 000 parazita/ $\mu$ L u područjima visokog prijenosa malarije) (51).

#### **2.4.2. Brzi dijagnostički testovi**

Brzi dijagnostički testovi (eng. *rapid diagnostic tests, RDTs*) detektiraju antigene plazmodija koristeći imunokromatografsku vrpcu, na čijem se kraju stavi kap krvi, a rezultati se očituju pojavom linija na vrpici (55). Postoje 3 vrste antigena koji se koriste u ovim testovima. To su histidinom bogati antigeni 2 parazita *P. falciparum* (eng. *Plasmodium falciparum histidine-rich protein-2, PfHRP-2*), plazmodijska laktat dehidrogenaza (pLDH) te plazmodijska aldolaza (56). Dok su druga dva antigena prisutna kod svih vrsta plazmodija kao enzimi koji sudjeluju u glikolitičkom putu parazita, prvi je specifičan i nalazi se samo u *P. falciparum*. Stoga su RDT-i koji detektiraju PfHRP-2 najprimjereniji za korištenje u područjima, gdje je *P. falciparum* dominantna vrsta (primjerice u supsaharskoj Africi) (52,57).



### 3. LIJEČENJE MALARIJE UZROKOVANE *P. falciparum*

Uspješno liječenje malarije prije svega uključuje ranu dijagnostiku i pravovremenu primjerenu terapiju. Pri uvođenju terapije valja voditi računa o lokalnim smjernicama za liječenje temeljenim na obrascima osjetljivosti, odnosno rezistencije uzročnika na određene antimalarike (58).

#### 3.1. Liječenje nekomplicirane *falciparum*-malarije

Glavni cilj liječenja nekomplicirane malarije je sprječavanje progresije u tešku bolest i smrt, smanjenje i olakšanje kliničkih simptoma te izliječenje od infekcije u što kraćem vremenu (59).

Prema preporukama SZO-a, prva linija liječenja nekomplicirane *falciparum*-malarije je kombinirana terapija bazirana na artemizininu (eng. *artemisinin-based combination therapy*, ACT) (51). Ona se sastoji od kombinacije lijekova koja sadrži derivate artemizininina poput artezunata, artemetera ili dihidroartemizininina te još jednog pridruženog lijeka (4).

ACT je sigurna i učinkovita u djece i odraslih te trudnica nakon prvog tromjesečja, s malo nuspojava, a velikom potentnošću protiv aseksualnih oblika plazmodija. Derivati artemizininina postižu vrlo brzo početni klirens plazmodija, no imaju kratak poluvijek. Zato se moraju kombinirati s drugim lijekom koji ima dulji poluvijek, a kojim se ostvaruje klirens rezidualne parazitemije i ujedno sprječava nastanak rezistencije na artemizinin (4,60). Primjena artemizininina kao monoterapije rezultirala bi neuspješnim liječenjem i ponovnim malaričnim napadajem s istim uzročnikom (rekrudescencijom) (61).

Neke od mogućih kombinacija su: artemeter-lumefantrin, artezumat-amodiakvin, artezumat-meflokin, artezumat-pironaridin, dihidroartemizina-piperakin. Niti jedna kombinacija nije se u liječenju pokazala uspješnijom od druge. Djelatne tvari samo se malo razlikuju u stabilnosti, oralnoj apsorpciji, bioraspoloživosti, metabolizmu i nuspojavama. Ukupna doza artemizina od 10-12 mg/kg daje se kroz 3 dana, a u područjima rezistencije na artemizina liječenje traje 6 dana (58).

U slučaju rekrudescencije (rekurentne infekcije  $\leq 28$  dana od početka liječenja) preporučeno je liječenje alternativnom ACT ili pak drugom terapijskom linijom nekomplicirane *falciparum*-malarije: artezumatom ili kininom u kombinaciji s doksiciklinom ili klindamicinom. Ako se radi o reinfekciji (rekurentna infekcija  $> 28$  dana od početka terapije) preporuča se liječenje inicijalnom ACT (51). Iznimka je ponovna primjena meflokina unutar 60 dana od prvog liječenja zbog povećanog rizika od neuropsihijatrijskih reakcija (uznemirenost, vrtoglavica, povraćanje) (58).

Kombinacija atovakvon-progvanil također je iznimno učinkovita u liječenju nekomplicirane *falciparum*-malarije u bolesnika koji je nisu koristili kao kemoprofilaksu (62). Nažalost, zbog skupoće lijeka i sklonosti brzom razvoju rezistencije, rijetko se primjenjuje u endemskim zemljama (4).

### **3.2. Liječenje teške, komplicirane *falciparum*-malarije**

Svaki bolesnik s dijagnozom teške malarije mora biti hospitaliziran na jedinicu intenzivnog liječenja. Potrebno je odrediti stanje svijesti prema GCS (*Glasgow Coma Scale*) po prijemu, ali i pratiti ga u nastavku liječenja. Uz pomni nadzor vitalnih funkcija, potrebno je što prije parenteralno primijeniti antimalarike te pratiti veličinu parazitemije (37).

Dvije vrste antimalarika koji se daju u teškoj malariji su derivati artemizininina (artezunat i artemeter) i *Cinchona* alkaloidi (kinin ili kinidin).

Lijek izbora je artezunat koji se daje i odraslima i djeci (uključujući i dojenčadi te trudnicama i dojiljama) intravenski ili, ako intravenska primjena nije moguća, intramuskularno. Bolesnici koji su primili parenteralnu terapiju barem 24 h i toleriraju peroralni unos trebaju nastaviti s ACT *per os* sljedeća 3 dana (4,37).

Ukoliko derivati artemizininina nisu dostupni, kao druga moguća opcija liječenja teške malarije je intravenska primjena kinina ili kinidina. Kinin-dihidroklorid ili kinidin-glukonat uvijek se daju u kombinaciji sa doksiciklinom, tetraciklinom ili klindamicinom (63).

Sveukupna njega bolesnika važna je u liječenju teške malarije. Praćenje vitalnih znakova, izlučivanja urina i stanja svijesti potrebno je što je više moguće. Glikemiju, koncentraciju laktata i parazitemiju te hemoglobin/hematokrit poželjno je kontrolirati svakih 4-6 sati. Ukoliko dođe do razvoja komplikacija teške malarije, bitno je na vrijeme ih uočiti i što prije započeti njihovo zbrinjavanje (64).

## 4. REZISTENCIJA NA ANTIMALARIKE – stalni problem u borbi protiv malarije

Tisućama godina, malarija je liječena prirodnim tvarima iz kore drveća, korijenja ili lišća. Aktivni sastojci tih tvari su identificirani i počeli su se koristiti kao sastojci lijekova tek u prošlom stoljeću. Možda najuspješniji od tih lijekova bio je kinin, alkaloid koji sadrži kinolin, a izoliran je iz kore kininovca u Južnoj Americi. Početkom 20. stoljeća tako dolazi do svojevrstne „kininizacije“, u kojoj su preparati kinina distribuirani po plantažama čaja, šećera i kaučuka malaričnih područja na kojima su radili neimuni radnici. Daljnjim usavršavanjem i istraživanjem nastali su novi derivati kinolina među kojima se istaknuo klorokin koji se zbog svoje učinkovitosti, dostupnosti i niske toksičnosti prometnuo u prvu liniju liječenja malarije do 1950-ih godina (65,66).

Prvi slučajevi rezistencije *P. falciparum* na klorokin javile su se 1960-ih godina u Južnoj Americi te Jugoistočnoj Aziji, a u idućih 20 godina proširila se i na tropske i suptropske krajeve (67). Najdrastičnije posljedice pojave rezistentnih sojeva *P. falciparum* bile su vidljive u supsaharskoj Africi, gdje su se incidencija i mortalitet udvostručili, a ponegdje i utrostručili (68). Dolazak novijih lijekova poput progvanila, amodiakvina, meflokina, piperakina i atovakvona kroz nekoliko desetljeća pratilo je i bilježenje rezistencije na iste (69). Kako je s vremenom *P. falciparum* razvio rezistenciju na mnoge antimalarike, tako se terapija *falciparum*-malarije mijenjala. Posebno zabrinjava pojava rezistencije na artemizinin koja se pojavila u Kambodži i proširila u okolnim zemljama Jugoistočne Azije. U tom području to ne predstavlja veliku prijetnju, jer većinu slučajeva malarije tamo uzrokuje *P. vivax* (koji se ne mora liječiti artemizininom) (70). Ono što je najveći problem jest dokaz o klonalnoj ekspanziji mutacije gena odgovorne za rezistenciju na artemizinin u Ruandi i Ugandi. Olakotna je okolnost što stopa neuspješnosti liječenja

u Ruandi i Ugandi ostaje ispod 10%, jer su pridruženi lijekovi u ACT i dalje učinkoviti (5). Ukoliko se rezistencija proširi u Africi, to bi značilo ne samo veliku prijetnju u pokušajima kontrole malarije u tom području, već i golem korak unatrag u borbi protiv ove bolesti (71).

#### **4.1. Definicija rezistencije na antimalarike**

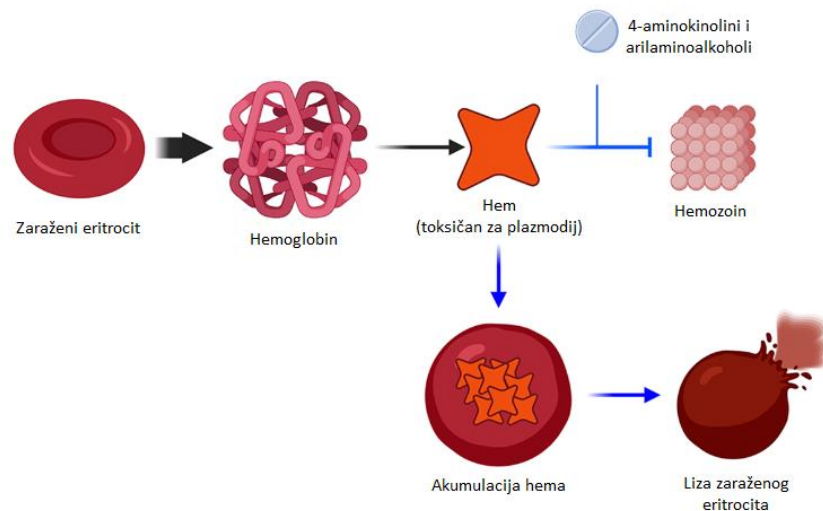
SZO definira rezistenciju na antimalarike kao sposobnost soja parazita da preživi ili se razmnožava unatoč administraciji i apsorpciji lijeka danog u dozi jednakoj ili većoj od uobičajene, uz toleranciju bolesnika. Otpornost na antimalarike nastaje kao rezultat nasumičnih genetskih mutacija u populaciji parazita. Zato se smatra da su bolesnici s hiperparazitemijom važan izvor *de novo* rezistencije. Ako genetska osobina daje parazitu prednost u preživljavanju kada je izložen lijeku, ona može biti odabrana i manifestira se, ukoliko se isti lijek stalno primjenjuje. Za neke je lijekove dovoljna jedna takva mutacija, a u drugim slučajevima je potrebno i više neovisnih mutacija. Stečena imunost domaćina utječe na uklanjanje parazita lijekovima, čak i rezistentnih sojeva. Stoga je vjerojatnost za pojavu širenja, kao i veću brzinu širenja, veća u neimune populacije (72–74).

#### **4.2. Molekularni mehanizmi rezistencije na antimalarike**

##### **4.2.1. Rezistencija na derivate kinolina**

Dvije skupine kinolinskih derivata na koje je zabilježena rezistencija su 4-aminokinolini i arilaminoalkoholi. U prvu skupinu ubrajamo klorokin, amodiakin i piperakin, dok u potonju spadaju kinin, kinidin, meflokin i lumefantrin. Obje skupine akumuliraju se u

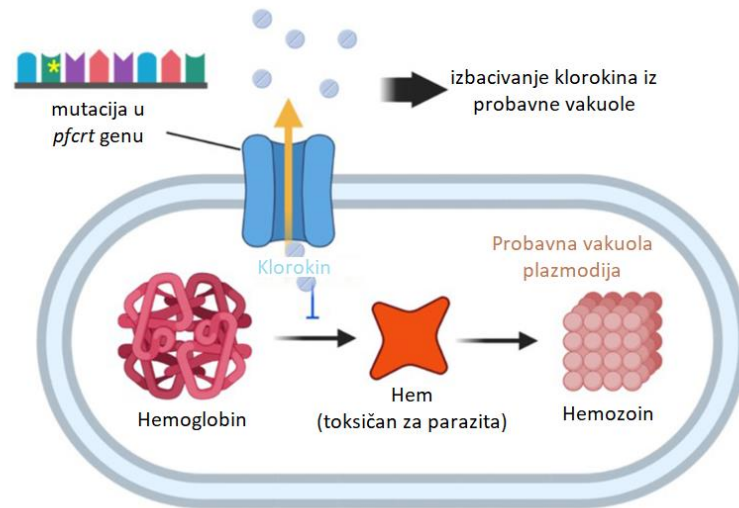
probavnoj vakuoli plazmodija i formiraju kompleks s hemom sprječavajući tako kristalizaciju u hemozin. Inhibirana je aktivnost hem polimeraze, dolazi do nakupljanja hema, bubrenja probavne vakuole i u konačnici lize zaraženog eritrocita (slika 2.) (75).



Slika 2. Mehanizam djelovanja derivata kinolina.  
Prema: Slater et al., 2021; uz dopuštenje izdavača Elseviera.

Paraziti rezistentni na klorokin pokazuju smanjenu akumulaciju klorokina u probavnim vakuolama, što je posredovano mehanizmom izbacivanja lijeka pomoću posebnog transportnog proteina PfCRT (eng. *Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter*) smještenog na membrani probavne vakuole plazmodija. Iako nativna funkcija tog transportera još nije utvrđena, pokazalo se da je od ključne važnosti u rastu i replikaciji plazmodija, kao i održavanju osmotske homeostaze probavne vakuole (76). Kada dođe do mutacije gena za PfCRT, transporter pojačano izbacuje klorokin iz probavne vakuole i na taj način ga udaljava od mjesta njegova djelovanja (slika 3.) (77). Praćenjem širenja mutacije *pfcr*t gena došlo je do spoznaje da su se ovakve mutacije pojavile neovisne jedna o drugoj u Aziji, Papua Novoj Gvineji i Južnoj Americi.

70-ih godina prošlog stoljeća klorokin-rezistentni gen proširio se s azijskog kontinenta na Afriku (75).



Slika 3. Mehanizam rezistencije na klorokin uslijed mutacije PfCRT.  
Prema: Slater et al., 2021; uz dopuštenje izdavača Elseviera.

Drugi čimbenik koji igra ulogu u rezistenciji na antimalarike koji djeluju na hem jest PfMDR1 (*P. falciparum multidrug resistance 1*) transporter kodiran *pfmdr1* genom. Radi se o ABC (ATP-binding cassette) transporteru koji se nalazi na citosolnoj strani membrane probavne vakuole parazita. Mutacije PfMDR1 inhibiraju transport antimalarika iz citosola u probavnu vakuolu smanjujući tako njihovu koncentraciju i mogućnost djelovanja na kristalizaciju hema (66).

Još jedan ABC transportni protein za koji je otkriveno da ima ulogu u rezistenciji na klorokin i kinin je i PfMRP (eng. *Plasmodium falciparum multidrug resistance-associated protein*). Mutacije PfMRP dovele su i do produljenog klirensa *P. falciparum* korištenjem primakina, piperakina i artemizinina, što može ukazivati i na to da ovaj transmembranski protein igra ulogu i u stvaranju rezistencija na navedene antimalarike (78).

Rezistencija na piperakin dovodi se u vezu s mutacijom u genima *pfmp2* i *pfmp3* koji kodiraju plazmepsin 2 i 3. To su proteaze *P. falciparum* koje sudjeluju u razgradnji hemoglobina u probavnoj vakuoli parazita. Piperakin djeluje tako da inhibira ove proteaze, a mutacija u *pfmp2* i *pfmp3* dovodi do pojačane ekspresije plazmepsina te posljedično smanjenog učinka piperakina (79).

#### **4.2.2. Rezistencija na antifolate**

U antifolatne antimalarike ubrajamo sulfonamide (sulfadoksin), pirimetamin, progvanil i dapson. Djelovanje ovih lijekova usmjereno je na enzime uključene u sintezu folata koji su nužni u procesu proizvodnje DNA plazmodija (80). Sulfadoksin djeluje na dihidropteroat sintazu (DHPS), a pirimetamin na dihidrofolat reduktazu (DHFR). Zbog njihovog sinergističkog učinka oni su kombinirani skupa u jednoj tableti (sulfadoksin-pirimetamin, SP). Nažalost, rezistencija na SP proširila se već unutar godinu dana od njihova uvođenja širom područja endemičnih za *falciparum*-malariju. Ona se temelji na mutacijama u genima za DHPS i DHFR. S obzirom na to da se SP koristi za prevenciju malarije u trudnica u endemičnim područjima, visok stupanj rezistencije (osobito u istočnoj i južnoj Africi) dovodi u pitanje njegovu učinkovitost (75).

U ovom dijelu valja spomenuti i rezistenciju na atovakvon koji se danas u kombinaciji s progvanilom koristi kao kemoprofilaksa putnika u endemske krajeve. Atovakvon blokira kompleks citokroma *bc1*, koji je važan u transportnom lancu elektrona u mitohondriju plazmodija. Rezistencija na atovakvon počiva na točkastoj mutaciji upravo u genu *cytb*. Srećom, istraživanja su pokazala kako plazmodiji rezistentni na atovakvon pokazuju određene poremećaje u zarazi komaraca i proizvodnji oocisti u



njima. To upućuje na to da, iako se rezistencija na atovakvon lako i brzo razvija, ona ipak ne može prenositi komarcima (69).

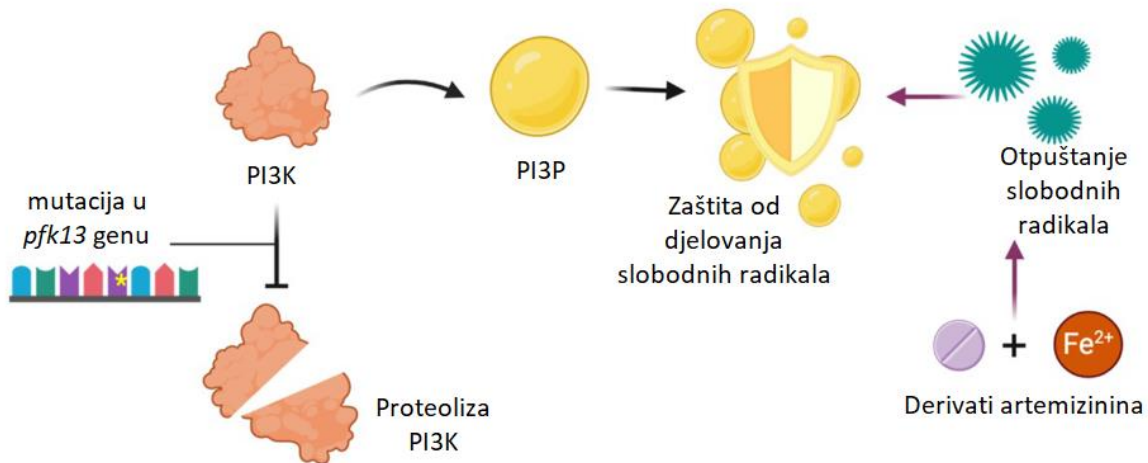
### **4.2.3. Rezistencija na artemizinin i njegove derivate**

Kineska civilizacija je preko 2000 godina koristila čajeve i ostale pripravke slatkog pelina (*Artemisia annua*) za liječenje malarije. S vremenom se iz njega ekstrahirao artemizinin, čiji su derivati danas među najučinkovitijim antimalaricima korišteni u ACT terapiji malarije: artemeter, arteeter, dihidroartemizinin i artezunat (75).

Derivate artemizininina odlikuje najbrži klirens plazmodija od svih antimalarika. Ne samo da uništavaju aseksualne oblike plazmodija u krvi nego i rane gametocite *P. falciparum*. Premda imaju kratak poluvijek (manji od 1 h), već pri niskim koncentracijama uspješno uklanjaju parazite iz krvi (66). To rade na način da unutar plazmodija podliježu reduktivnom cijepanju svog endoperoksidnog mosta pomoću  $Fe^{2+}$  iz hema nastalog razgradnjom hemoglobina. U tada aktiviranom stanju, dolazi do oslobađanja slobodnih radikala koji su odgovorni za oksidativno oštećenje proteina i lipida stanice te poremećaj komponenata membrane do te mjere da je oštećenje parazita nepopravljivo (81). Samim time zaraženi eritrocit također se oštećuje i postaje meta imunološkog sustava domaćina koji ga onda uklanja fagocitozom (82).

Više istraživanja potvrdilo je povezanost mutacije u *PfK13* genu za Kelch 13 (K13) protein sa rezistencijom na artemizinin. Vjeruje se da je K13 supstrat za E3 ligazu koja se veže za fosfatidilinozitol-3-kinazu (PI3K) i tako ju označava za razgradnju ubikvitin ligazom. Mutacija u K13 proteinu destabilizira ovu interakciju i tako dovodi do smanjenja proteolize PI3K povećavajući pritom razinu njezinog lipidnog produkta

fosfatidilinozitol-3-fosfata (PI3P). On štiti plazmodij od oštećenja slobodnim radikalima na kojem i počiva djelovanje artemizina (slika 4.) (83).



Slika 4. Mehanizam rezistencije na derivate artemizina.  
 Prema: Slater et al., 2021; uz dopuštenje izdavača Elseviera.

Prema jednom novijem istraživanju, dodatni zaštitni čimbenik *P. falciparum* protiv derivata artemizina jest formiranje rozeta. Naime, zreliji stadiji trofozoita u zaraženim eritrocitima pokazali su pojačano formiranje rozeta nakon izlaganja artemizinu što je pridonijelo otežanoj fagocitozi od strane imunološkog sustava. Kao glavni ligand u ovom artemizinin-induciranom formiranju rozeta izdvojen je PfEMP1. Formiranje rozeta ujedno daje i mogućnost zrelijim stadijima parazita da dovrše svoju eritrocitnu shizogoniju i nastave svoj životni ciklus (82). Ovaj zanimljivi podatak govori u prilog tome koliko je rezistencija na artemizinin u *P. falciparum* kompleksna tema koja bi se trebala pomnije proučavati.

Tijekom pandemije COVID-19, brojno stanovništvo endemskih područja za malariju ponukano neprovjerenim informacijama posegnulo je za pripravcima slatkog pelina kao kućnim lijekovima protiv COVID-a, unatoč snažnim nastojanjima SZO da to spriječi. Na Madagaskaru je primjerice bio popularan tonik (Covid Organic) od slatkog

pelina. Premda su neka istraživanja pokazala protuupalni potencijal visokih doza artemizininina u liječenju infekcije COVID-19, nijedno istraživanje nije dokazalo interakciju artemizininina s receptorom angiotenzin-konvertirajućeg enzima 2 (ACE2) koji je patofiziološki značajan za SARS-CoV-2. Ovakva i slična hiperkonzumacija proizvoda koji sadrže artemizinin ili njegove derivate također predstavljaju potencijalnu prijetnju za razvoj rezistencije, osobito u područjima Afrike, koja je najopterećenija malarijom (84).

Iako smanjena osjetljivost *P. falciparum* na artemizinin svakako zabrinjava, ACT ostaje najučinkovitiji oblik liječenja nekomplikirane *falciparum*-malarije. SZO ovo definira kao „djelomičnu rezistenciju na artemizinin“ – iako je klirens parazita nešto produljen, liječenje derivatima artemizininina je i dalje učinkovito. Imajući u vidu smjernice SZO-a za liječenje malarije, ACT se ne bi trebala mijenjati sve dok druga djelatna tvar u ACT i dalje pokazuje jednaku učinkovitost u klirensu parazita (74,83).

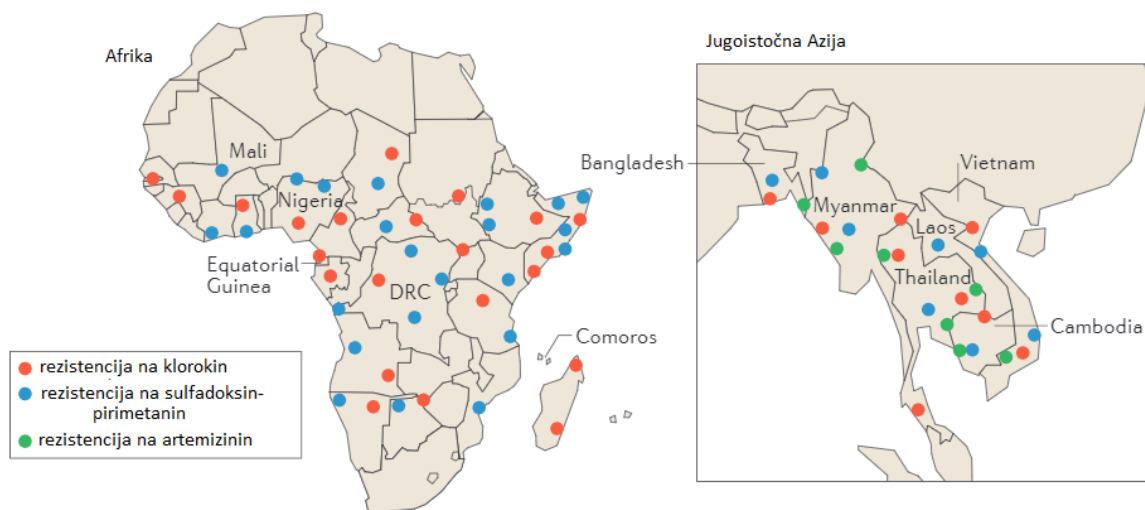
### **4.3. Epidemiologija i širenje rezistencije na antimalarike**

Raširenost rezistencije na antimalarike velikim dijelom potječe iz područja Indokine, odakle se različitim putevima širenja proširila na Afriku i Južnu Ameriku. Sažet prikaz distribucije rezistencije na području Afrike i Jugoistočne Azije nalazi se na slici 5. (85).

Na slici 6. vidljiv je i smjer širenja rezistencije na klorokin, pirimetamin i sulfadoksin. U rezistenciji na klorokin (A) postoje najmanje dva glavna žarišta: jugoistočna Azija i Južna Amerika. Također se pretpostavlja da su tri manja žarišta na Filipinima, Melaneziji i Južnoj Americi. U rezistenciji na pirimetamin (B) postoje najmanje dva glavna žarišta rezistencije: jugoistočna Azija i Južna Amerika, koja su zemljopisno podrijetlo visokootpornih parazita (nose više od tri mutacije u *dhfr* genu). Također se

pretpostavljaju četiri manja žarišta rezistencije: tri u Africi, uključujući Ganu, Kamerun i Keniju, i jedno u Južnoj Americi (obojeno sivo). U rezistenciji na sulfadoksin (C), prikazano je zemljopisno podrijetlo visokootpornih parazita (nose više od tri mutacije u genu *dhps*). Postoje najmanje četiri glavna žarišta: tri u jugoistočnoj Aziji i jedno u Južnoj Americi (86).

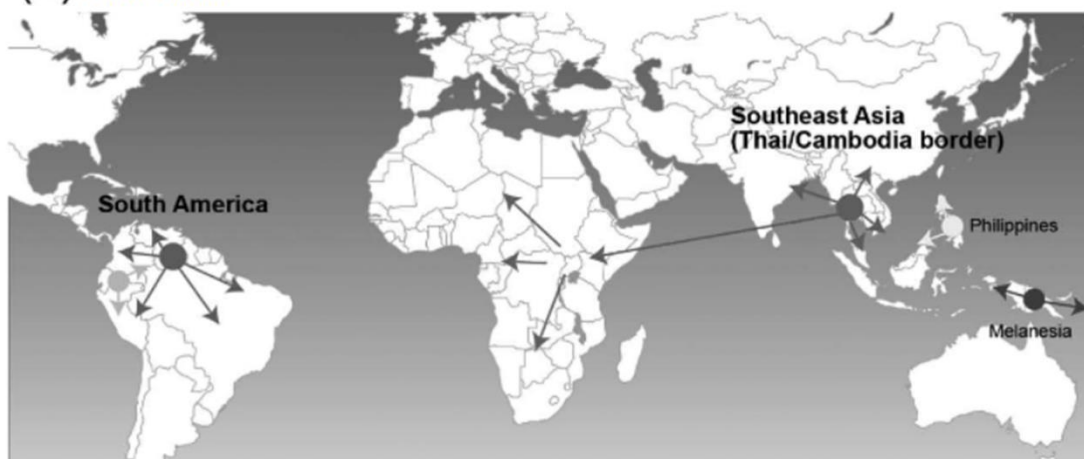
Nakon što je već duže vrijeme bilježenje rezistencije na artemizinin bilo ograničeno na područje Indokine, posljednjih godina pojavila se rezistencija na derivate artemizina u Africi, točnije u Ruandi i Ugandi, gdje su otkrivene klonalne mutacije PfKelch13 među ispitanicima (5,87). Dodatno, R622I, kandidatski marker djelomične rezistencije na artemizinin, uočen je na Rogu Afrike, osobito u Eritreji. Potrebne su daljnje studije kako bi se utvrdilo opseg širenja polimorfizama PfKelch13 u istočnoj Africi i istražilo sve odnose između tih mutacija i promjena u klirensu parazita i otpornosti *in vitro* (5).



Slika 5. Distribucija rezistencije *P. falciparum* na klorokin, sulfadoksin-pirimetamin te artemizinin.

Modificirano prema: Haldar et al, 2018.

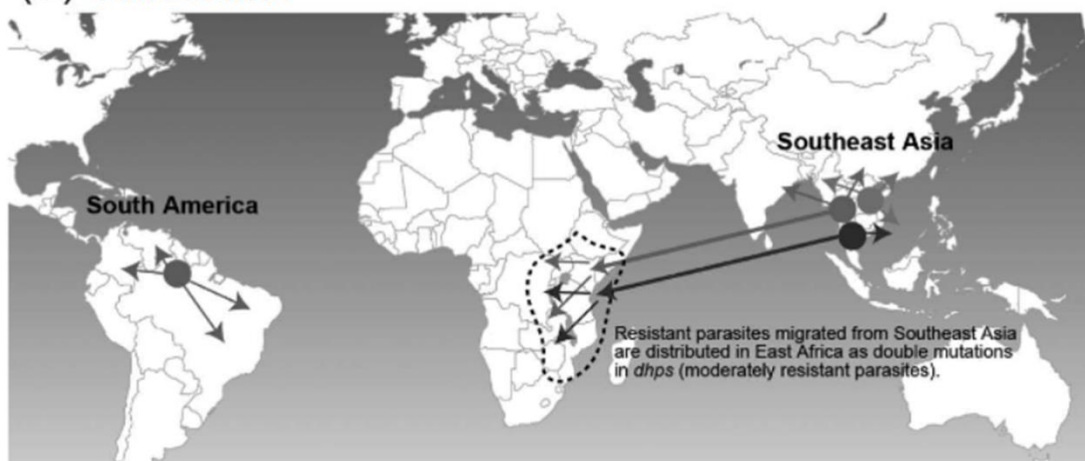
(A) Klorokin



(B) Pirimetamin



(C) Sulfadoksin



Slika 6. Žarišta i smjerovi širenja rezistencije na klorokin (A), pirimetamin (B) i sulfadoksin (C)

Modificirano prema: Mita T, Tanabe K, 2012.

#### **4.4. Načini detekcije rezistencije na antimalarike**

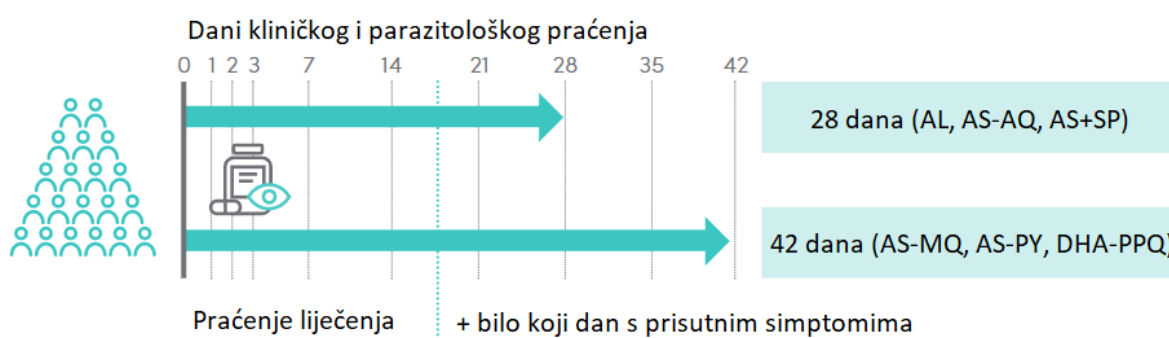
Da bismo mogli razumjeti dinamiku rezistencije na antimalarike i time i odgovoriti na nju određenim strategijama, važno je detektirati je u ljudskoj populaciji. Postoji nekoliko metoda za to poput testiranja učinka antimalarika *in vivo*, studije osjetljivosti na antimalarike *in vitro* ili molekularnim metodama. Sve ove metode su komplementarne jedna drugoj i svaka na svoj način daje nam korisne informacije o rezistenciji (71).

##### **4.4.1. *In vivo* metode detekcije rezistencije**

Tijekom *in vivo* istraživanja bolesnici kojima je dijagnosticirana malarija, liječe se antimalaricima u preporučenim dozama te im se prati razina parazitemije, kao odgovor na terapiju. Ovo su tzv. istraživanja terapijskog učinka (eng. *therapeutic efficacy studies*, TES) i od velike su važnosti, jer pokazuju učinak lijeka i rezistencije na lijek u organizmu bolesnika, gdje interakcije između plazmodija i domaćina mogu mijenjati učinak lijeka, a time posredno i klinički ishod (71). Složenost imunološkog odgovora i njegove razlike među pojedincima mogu dovesti do toga da se neka zapažanja uočena *in vitro* ili molekularnim metodama ne podudaraju s onime što je vidljivo klinički u bolesnika. Primjerice, neki lijek koji je u *in vitro* istraživanjima dokazano učinkovit, ne mora biti jednako učinkovit *in vivo* uslijed apsorpcije i tjelesnog metabolizma (3). Nadalje, ako bolesnik ima odranije visoku razinu stečene imunosti (poput stanovnika endemskih područja), to može maskirati rezistenciju na lijek, jer je, unatoč neučinkovitosti lijeka, imunološki odgovor dovoljan da se riješi infekcije (88).

Iako navedeni čimbenici zabune predstavljaju nedostatak *in vivo* istraživanja, ona nam, za razliku od drugih metoda, uz mjerenje parazitemije mogu dati konkretne informacije poput anemije ili drugih simptoma u bolesnika. Na taj način su najkorisniji prikaz kako se rezistencija na antimalarike odražava klinički (71).

TES ostaju zlatni standard u detekciji rezistencije i koriste se za izradu nacionalnih smjernica i preporuka za liječenje malarije. Klinički i parazitološki odgovor na liječenje evaluira se 0., 1., 2., 3., 7., 14., 21. i 28. dan (i 35., odnosno 42. dan za kombinirane lijekove u ACT). Terapijski ishod procjenjuje se zadnji dan istraživanja (tj. 28., odnosno 42. dan). Također je preporučeno da se ACT u kojima lijekovi pridruženi derivatu artemizininina imaju relativno kratak poluvijek prate idućih 28 dana, odnosno 42 dana ako imaju dugi poluvijek (slika 7.) (74).



Slika 7. TES za *P. falciparum*, modificirano prema: Report on antimalarial drug efficacy, resistance and response 10 years of surveillance (2010-2019), World Health Organization, 2020

AL: artemeter-lumefantrin; AS-AQ: artezunat-amodiakvin; AS-MQ: artezunat-meflokin; AS-PY: artezunat-pironaridin; AS+SP: artezunat+sulfadoksin-pirimetamin; DHA-PQ: dihidroartemizinin-piperakin

TES koje se provode prema protokolu SZO-a na istim područjima i u pravilnim vremenskim intervalima omogućuju da se rezultati usporede unutar istog te s drugim područjima u nekom vremenskom razdoblju. Time se mogu detektirati prvi znakovi

promjene u učinkovitosti terapije. U područjima visokog prijenosa malarije, u TES se uključuju samo febrilna djeca s parazitemijom od 2000 do 200 000 aseksualnih oblika parazita/ $\mu$ L. U područjima niskog prijenosa malarije uključeni su i odrasli i bolesnici s nižom parazitemijom. U TES se ne uključuju trudnice, bolesnici s komorbiditetima poput HIV-a i tuberkuloze te asimptomatski bolesnici koji su afebrilni pri prijemu ili 24 h prije prijema (74).

SZO klasificira odgovor na liječenje u TES-u u jednu od 4 skupine: rani terapijski neuspjeh (eng. *early treatment failure*, ETF), kasni klinički neuspjeh (eng. *late clinical failure*, LCF), kasni parazitološki neuspjeh (eng. *late parasitological failure*, LPF) i adekvatan klinički i parazitološki odgovor (eng. *adequate clinical and parasitological response*, ACPR) (89). Značajke svake od skupina mogu se vidjeti u okviru br. 1.



Rani terapijski neuspjeh (early treatment failure, ETF)

- kritični znakovi teške malarija 1., 2. ili 3. dan uz prisutnu aseksualnu parazitemiju; ili
- aseksualna parazitemija 2. dan veća nego 0. dan, neovisno o aksilarnoj temperaturi; ili
- aseksualna parazitemija 3. dan s aksilarnom temperaturom  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ ; ili
- aseksualna parazitemija 3. dan  $\geq 25\%$  nego 0. dan

Kasni klinički neuspjeh (late clinical failure, LCF)

- teška malarija uz aseksualnu parazitemiju bilo koji dan između 4. i 28. (odnosno 42.) dana u bolesnika koji prije nisu ispunjavali kriterije za ETF; ili
- aseksualna parazitemija bilo koji dan između 4. i 28. (odnosno 42.) dana s aksilarnom temperaturom  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$  u bolesnika koji prije nisu ispunjavali kriterije za ETF

Kasni parazitološki neuspjeh (late parasitological failure, LPF)

- aseksualna parazitemija bilo koji dan između 7. i 28. (odnosno 42.) dana s aksilarnom temperaturom  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$  u bolesnika koji prije nisu ispunjavali kriterije za ETF ili LCF

Adekvatan klinički i parazitološki odgovor (adequate clinical and parasitological response, ACPR)

- odsutnost aseksualne parazitemije na kraju praćenja (28., odnosno 42. dan), neovisno o aksilarnoj temperaturi, u bolesnika koji prije nisu ispunjavali kriterije za ETF, LCF ili LPF

*Okvir 1. SZO klasifikacija odgovora na liječenje u TES; prema: Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy, World Health Organization, 2009*

#### 4.4.2. *In vitro* metode detekcije rezistencije

Prednost *in vitro* metoda detekcije rezistencije na antimalarike jest uklanjanje čimbenika zabune ovisnih o interakciji parazita i domaćina. *P. falciparum* izolira se u kontroliranim uvjetima, kultivira i zatim izlaže antimalaricima u različitim koncentracijama. Zatim se određenim tehnikama prati preživljavanje i rast plazmodija i posljedično dobiva uvid u osjetljivost, odnosno rezistenciju plazmodija na određeni lijek. Rezistencija se kvantificira računanjem stope preživljavanja plazmodija ili preko  $IC_{50}$  (inhibitorna koncentracija lijeka koja smanjuje rast plazmodija za 50%) (3).

Najosnovnija metoda za procjenu rasta plazmodija kao odgovor na izloženost određenom antimalariku je ručno brojanje plazmodija u preparatu bojenom prema Giemsa-Romanowskom. *P. falciparum* uzgaja se s različitim koncentracijama lijeka, a zatim se broj parazita uočenih mikroskopijom koristi za izračunavanje  $IC_{50}$ . Nedostatak ove metode je što je iscrpljujuća i vidljivost *P. falciparum* ovisi o razvojnem stadiju u kojem se nalazi. Kako bi se olakšao ovaj postupak danas se mogu koristiti fluorescentni markeri koji se inkubiraju u uzorak te zatim reagiraju s nukleinskom kiselinom u zaraženim eritrocitima. Fluorimetrom se onda mjeri intenzitet fluorescencije svakog uzorka koji se onda koristi za izračunavanje  $IC_{50}$  (90).

Postoje i testovi u kojima se uzorku dodaju radioaktivni izotopi koji se ugrađuju u DNA *P. falciparum*. Kulture plazmodija koje su bile izložene različitim koncentracijama lijeka filtriraju se kroz papir koji se zatim osuši, a njegovo  $\beta$ -zračenje mjeri se u  $\beta$ -brojaču. Relativna radioaktivnost koja odgovara koncentraciji lijeka koristi se za izračunavanje  $IC_{50}$  (91). Ova metoda nije u široj upotrebi, zbog ovisnosti o radioaktivnim reagensima i s njima povezanim rizicima (92).

U mjerenju rasta plazmodija može poslužiti i protočna citometrija. Njome se može odrediti koliko je eritrocita u uzorku krvi zaraženo pomoću fluorescentne boje inkubirane u eritrocite koju zatim detektira uređaj. Postoje i uređaji koji mogu detektirati hemozoin, što olakšava proces i ne zahtijeva potrebu za fluorescentnim markerima (93,94).

Razvijeni su i ELISA testovi (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*) razvijeni za kvantificiranje različitih proteinskih nusproizvoda, koji se nakupljaju u kulturi prilikom metabolizma plazmodija. To su laktat dehidrogenaza (pLDH) i za *P. falciparum* specifični histidinom bogati antigeni 2 parazita *P. falciparum* (PfHRP-2). Spektrofotometrijom se kvantificiraju količine tih enzima u svakom uzorku. Prema njima se izračunava IC<sub>50</sub>, koja je odraz smanjenog nakupljanja tih proteina uslijed inhibicije određenim lijekom (92).

Kako artemizinin djeluje predominantno na plazmodije u stadiju prstena, posebna metoda detekcije rezistencije na artemizinin je RSA (eng. *ring-stage survival assay*). Za provođenje ovog testa, plazmodiji se uzgajaju bez antimalarika dok ne dosegnu veliku gustoću. Onda se iz kulture uklanjaju oni u stadiju shizonta. Paraziti u stadiju prstena (0-3 sata nakon invazije eritrocita) se izlažu koncentracijama lijeka usporedivim s onima koje su u ljudskom tijelu vidljive nakon terapije artemizininom te se uspoređuju s populacijama parazita uzgojenima bez lijeka. Stopa preživljavanja određuje se mikroskopskom detekcijom udjela početne populacije parazita, koji se dalje razvija u zreli trofozoit (95).

### **4.4.3. Molekularne metode detekcije rezistencije**

Danas su u upotrebi različite molekularne metode koje se koriste u detekciji rezistencije na antimalarike. One se temelje na PCR-u i metodama sekvencioniranja gena, a funkcioniraju tako da prepoznaju određene polimorfizme u genima, koji su molekularni markeri rezistencije.

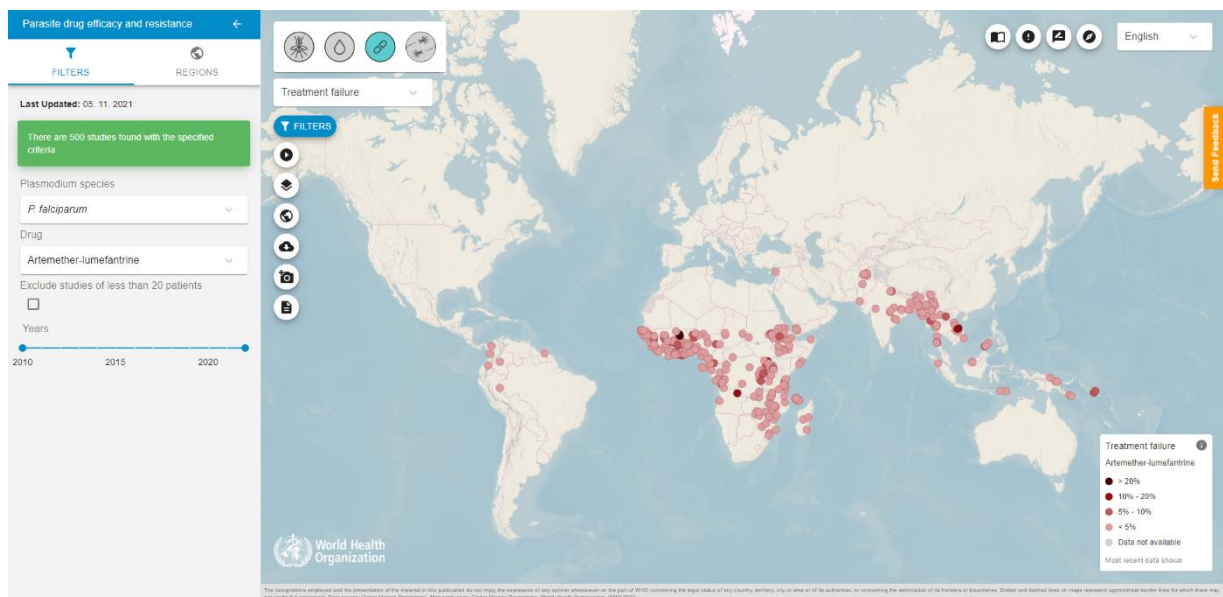
Učestalost pojavljivanja specifičnih genskih mutacija u uzorku plazmodija dobivenih od bolesnika s određenog područja može upućivati na stupanj rezistencije na lijekove u tom području. Prednosti molekularnih metoda uključuju potrebu za samo malim količinama genetskog materijala, neovisnost o domaćinu i okolišnim čimbenicima te mogućnost provođenja velikog broja testova u relativno kratkom vremenskom razdoblju. Nedostatci su potreba za sofisticiranom opremom te potreba za educiranim stručnjacima (3).

### **4.5. Učinkovitost liječenja antimalaricima danas**

U Afričkoj regiji SZO-a, TES istraživanja provedena od 2015. do 2020. pokazala su visoku učinkovitost ACT terapije za *P. falciparum*. Prva linija liječenja *falciparum*-malariae u tom području su kombinacije artemeter-lumefantrin (AL), artezumat-amodiakvin (AS-AQ), artezumat-pironaridin (AS-PY) i dihidroartemizinin-piperakin (DHA-PPQ). Visoka učinkovitost prema TES se bilježi i u Američkoj regiji SZO-a, gdje su prva linija liječenja AL, artezumat-meflokin (AS-MQ) i klorokin (CQ). U Jugoistočnoazijskoj regiji SZO-a prva linija su AL, AS-MQ, AS-PY, artezumat sa sulfadoksin-pirimetaminom (AS+SP) i DHA-PPQ. TES vezani za AL provedeni u Bangladešu, Indiji i Mianmaru pokazuju visoku učinkovitost svih navedenih oblika liječenja. Premda je u Indiji neuspješnost liječenja AS+SP i dalje niska, jedno

istraživanje otkrilo je visoku prevalenciju *dhfr* i *dhps* mutacija, upućujući tako na smanjenu osjetljivost na pridruženi lijek (SP) u tom području. *PfKelch13* mutacije povezane s rezistencijom na artemizinin u području Indokine bilježe visoku prevalenciju. Među uzorcima prikupljenima u Mianmaru i zapadnom Tajlandu između 2015. i 2020. uočena je *PfKelch13* mutacija u čak 65,5% njih. U Istočnomediteranskoj regiji SZO-a, AL i AS+SP ostaju učinkovita prva linija liječenja, dok su u Zapadnopacifičkoj regiji to AL, AS-MQ, AS-PY i DHA-PPQ (5).

Ova istraživanja, ali i sva buduća SZO redovito objavljuje te istovremeno ažurira svoju interaktivnu kartu prijetnje malarije u svijetu (slika 8.).



Slika 8. Interaktivna karta SZO-a Malaria Threat Map: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/surveillance/malaria-threats-map>  
 Za primjer je uzet AL za čije su učinkovitosti prema TES-u na karti svijeta obilježene odgovarajućom bojom.

## **4.6. Sprječavanje rezistencije na antimalarike**

### **4.6.1. Praćenje učinkovitosti liječenja i rezistencije**

Informacije o rezistenciji plazmodija i učinkovitosti liječenja dobivaju se pomoću metoda detekcije rezistencije o kojima je bilo riječi prije, pri čemu su TES istraživanja zlatni standard. SZO preporuča da se ona provode najmanje svake 2 godine. Takva istraživanja nažalost iziskuju ne samo vrijeme, već i resurse. Dodatno, klinički odgovor na liječenje ovisi i o drugim čimbenicima nevezanih uz rezistenciju, poput postojanja imunosti. Shodno tome, detekcija promjena u genotipu parazita u TES istraživanjima u područjima većeg rizika za malariju može kasniti u usporedbi s onom u područjima manjeg rizika. *In vitro* dokazi ovdje imaju prednost jer je imunost isključena kao čimbenik zabune, no ona pak zahtijevaju laboratorijsku infrastrukturu i stručno osoblje. Stoga, kako bi se mogla konstruirati adekvatna karta širenja rezistencije i detektirati istu prije nego se proširi, potrebno je kombinirati ovakvu fenotipsku i genotipsku vrstu nadzora (95,96).

### **4.6.2. Smanjenje selektivnog pritiska lijekovima**

Ograničen broj lijekova koji se koriste u liječenju malarije znači da i kad se jednom detektira rezistencija, zaustavljanje upotrebe lijeka na koji se ona razvije možda neće biti najbolja, ako je to uopće i moguća opcija. Stoga treba ograničiti broj parazita koji je izložen pritisku istim lijekom, tj. upotrebi jednog te istog lijeka. Osnovni dio odgovora na rezistenciju na antimalarike trebalo bi biti i nastojanje smanjenja transmisije i zaustavljanja širenja rezistencije i drugim metodama, a ne samo lijekovima. To

uključuje kontrolu vektora i poboljšanje zaštite životnih prostora od vektora (upotreba mreža, repelenata).

### **4.6.3. Korištenje kombinacije lijekova u liječenju**

Izbjegavanje pretjeranog izlaganja plazmodija istom lijeku može se postići upotrebom kombinacije različitih lijekova u liječenju malarije te korištenjem različitih lijekova u različitim intervencijama poput sezonalne kemoterapije malarije (eng. *seasonal malaria chemotherapy*, SMC), intermitentnog preventivnog liječenja u dojenčadi (eng. *intermittent preventive treatment in infants*, IPTi) i intermitentnog preventivnog liječenja trudnica (eng. *intermittent preventive treatment for pregnant women*, IPTp) (96).

Alternativni pristup od monoterapije u liječenju je korištenje više lijekova, poput terapije HIV-a ili tuberkuloze (97). Kombinacija nekoliko (dvije ili više) molekula s različitim mehanizmima djelovanja i različitim poluvremenima eliminacije može smanjiti vjerojatnost da će paraziti razviti otpornost, jer otpornost na jedan antimalarik ne daje uvijek otpornost na antimalarike druge klase (98).

Počelo se raspravljati i o potencijalnoj upotrebi tzv. trostruke ACT terapije (TACT). U TACT bi se uz jedan od derivata artemizinina kombinirala dva partnerska lijeka ACT-a. Najčešće se za kombiniranje predlažu piperakin+meflokin i lumefantrin+amodiakvin zbog opažanja da ti lijekovi imaju različite mehanizme rezistencije. Druge trostruke kombinirane terapije koje se ispituju su ACT u kombinaciji s atovakvon-progvanilom (99,100).

#### **4.6.4. Regulacija kvalitete antimalarika**

Praćenje upotrebe antimalarika od strane službenih pružatelja zdravstvenih usluga ključno je, ali ga nije lako provesti. Čak i u regijama s jakim zdravstvenim sustavima i komponentama proaktivnog osiguranja kvalitete lijekova, antimalarici se mogu nabaviti putem privatnog sektora (npr. putem privatnih ljekarni ili trgovina). Mnoštvo takvih prodavača i njihov nepouzdan i često nedokumentirani status predstavljaju velike prepreke za liječenje malarije, kako zbog povećanja izloženosti parazita monoterapijama, tako i antimalaricima loše kvalitete. Samo 20% država članica SZO-a ima dobro uspostavljene propise o lijekovima. Stoga postoji ogromna potreba za povećanjem osiguranja kvalitete antimalarika (101).

#### **4.6.5. Sprječavanje širenja rezistentnih sojeva plazmodija**

Dodatne intervencije predložene u područjima gdje se razvila rezistencija uključuju primjenu više lijekova kao kemoprofilaksu (eng. *multidrug administration*, MDA), koja nastoji smanjiti broj slučajeva malarije korištenjem lijekova, koji nisu oni na koje se razvila rezistencija. Smanjeno širenje rezistentnih sojeva može se spriječiti ranom detekcijom rezistencije i dobrom kontrolom vektora komaraca (repelenti, zaštite u obliku mreža, kontrola staništa komaraca) (96).

U prošlosti se rezistencija razvijala u graničnim područjima. Osim toga, prekogranični migranti često rade u područjima koja ih izlažu velikom riziku od malarije. Stoga je često potrebna međunarodna koordinacija i naponi da se minimaliziraju prepreke uslugama liječenja malarije s kojima se migranti suočavaju. Premda se djelomična rezistencija na artemizinin pojavila na više lokacija, ne treba zanemariti rizik od širenja vrlo otpornih sojeva po kontinentima. U Indokini se primjerice provodi *screening*



migranata i drugih putnika na malariju te se oboljelima pruža adekvatno liječenje. Ključni izazov je to što su granice često porozne i mnogi od onih s najvećim rizikom od malarije prelaze neslužbenim rutama u susjedne zemlje. Unatoč tome, smanjenje rizika od širenja rezistentnih sojeva mora biti prioritet tamo gdje se pojavi otpornost, koja se smatra potencijalnom prijetnjom javnom zdravlju i kada može doći do pojave značajnog broja mogućih nositelja otpornih parazita. U Kambodži su razvijeni protokoli za provjeru pripadnika mirovnih snaga UN-a koji se šalju iz Kambodže u visoko endemska područja u Africi kako bi se osiguralo da se otporni paraziti ne šire ovim putem (96,102).

## 5. ZAKLJUČAK

Pojava rezistencije na antimalarike prijeti učinkovitim liječenju malarije, njezinoj kontroli te u konačnici eliminaciji. Danas imamo sve sofisticiranije alate za nadzor, obuzdavanje i borbu protiv pojave, širenja i štetnosti rezistencije na lijekove protiv malarije. Ipak, kontrola malarije nazaduje. Suučesnici su proturječne sile političke nestabilnosti, „umora“ donatora, klimatskih promjena i, odnedavno, konkurentskih javnozdravstvenih prioriteta i gospodarske recesije uzrokovane pandemijom koronavirusa. Širenje otpornosti na lijekove na ACT predstavlja barem jednaku prijetnju. Novosti u razvoju lijekova, kliničkoj farmakologiji, genomici parazita, transkriptomici i bioinformatici, svojom učinkovitim i razumnim primjenom su ono što može vratiti oslonac Globalnoj tehničkoj strategiji SZO u eliminaciji malarije.

## **6. ZAHVALE**

Zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Josipu Begovcu na savjetima, strpljenju te uloženom vremenu tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Također zahvaljujem svojim roditeljima koji su mi bili podrška cijelo vrijeme mog studiranja. Posebno bih se zahvalio i svojoj sestri Tei, čiji su mi savjeti i potpora omogućili da i najteži dijelovi studija ipak prođu lako.

I konačno zahvaljujem svojim prijateljima i kolegama, što su mi fakultetsko razdoblje učinili toliko ispunjenim.

## 7. LITERATURA

1. Foster SD. Pricing, distribution, and use of antimalarial drugs. Vol. 69, Bulletin of the World Health Organization. 1991.
2. Ridley RG. Plasmodium: Drug discovery and development - An industrial perspective. *Experimental Parasitology*. 1997;87(3).
3. Bloland PB. Drug resistance in malaria (WHO/CDS/CSR/DRS/2001.4). World Health Organization. 2001;
4. Lukas D. Plasmodium species. In: Begovac J, editor. *Klinička infektologija Zagreb: Medicinska naklada*. 2019. p. 880–93.
5. WHO. WHO malaria report. World Health Organization. 2021.
6. Kalenić S. Krvni i tkivni protozoi. In: *Medicinska mikrobiologija*. 2019. p. 639–45.
7. Snow RW, Guerra CA, Noor AM, Myint HY, Hay SI. The global distribution of clinical episodes of Plasmodium falciparum malaria. *Nature*. 2005;434(7030).
8. Jong EC, Stevens DL. *Netter's Infectious Disease*. Netter's Infectious Disease. 2012. 373–382 p.
9. Owusu-Ofori AK, Betson M, Parry CM, Stothard JR, Bates I. Transfusion-transmitted malaria in Ghana. *Clinical Infectious Diseases*. 2013;56(12).
10. Gruell H, Hamacher L, Jennissen V, Tuchscherer A, Ostendorf N, Löffler T, et al. On taking a different route: An unlikely case of malaria by nosocomial transmission. *Clinical Infectious Diseases*. 2017;65(8).
11. CDC. Where Malaria occurs? [Internet]. [cited 2022 Jun 10]. Available from: <https://www.cdc.gov/malaria/about/distribution.html>
12. Smith T, Maire N, Dietz K, Killeen GF, Vounatsou P, Molineaux L, et al. Relationship between the entomologic inoculation rate and the force of infection for Plasmodium falciparum malaria. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2006;75(SUPPL. 2).
13. Gething PW, Patil AP, Smith DL, Guerra CA, Elyazar IRF, Johnston GL, et al. A new world malaria map: Plasmodium falciparum endemicity in 2010. *Malaria Journal*. 2011;10.
14. *Oxford Handbook of Tropical Medicine*. In: *Oxford Handbook of Tropical Medicine*. 2014.
15. Farrar J, Hotez PJ, Junghanss T, Kang G, Lalloo D, White NJ. *Manson's Tropical Diseases: Twenty-Third Edition*. 23rd ed. *Manson's Tropical Diseases: Twenty-Third Edition*. 2013. 532–600 p.
16. Vaughan AM, Kappe SHI. Malaria parasite liver infection and exoerythrocytic biology. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2017;7(6).

17. Shakya B, Patel SD, Tani Y, Egan ES. Erythrocyte cd55 mediates the internalization of plasmodium falciparum parasites. *Elife*. 2021;10.
18. Hempelmann E. Hemozoin biocrystallization in Plasmodium falciparum and the antimalarial activity of crystallization inhibitors. Vol. 100, *Parasitology Research*. 2007.
19. Nureye D, Assefa S. Old and Recent Advances in Life Cycle, Pathogenesis, Diagnosis, Prevention, and Treatment of Malaria including Perspectives in Ethiopia. Vol. 2020, *Scientific World Journal*. Hindawi Limited; 2020.
20. Maier AG, Rug M, O'Neill MT, Brown M, Chakravorty S, Szeszak T, et al. Exported Proteins Required for Virulence and Rigidity of Plasmodium falciparum-Infected Human Erythrocytes. *Cell*. 2008;134(1).
21. May HO, White NJ. Molecular mechanisms of cytoadherence in malaria. *American Journal of Physiology*. 1999;276(6 PART 1).
22. Chakravorty SJ, Craig A. The role of ICAM-1 in Plasmodium falciparum cytoadherence. Vol. 84, *European Journal of Cell Biology*. 2005.
23. Baruch DI, Gormley JA, Ma C, Howard RJ, Pasloske BL. Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 is a parasitized erythrocyte receptor for adherence to CD36, thrombospondin, and intercellular adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(8).
24. Chen Q, Barragan A, Fernandez V, Sundström A, Schlichtherle M, Sahlén A, et al. Identification of Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein I (PfEMP1) as the rosetting ligand of the malaria parasite P. falciparum. *Journal of Experimental Medicine*. 1998;187(1).
25. Rowe JA, Claessens A, Corrigan RA, Arman M. Adhesion of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes to human cells: Molecular mechanisms and therapeutic implications. Vol. 11, *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2009.
26. Barragan A, Kremsner PG, Wahlgren M, Carlson J. Blood group A antigen is a coreceptor in Plasmodium falciparum rosetting. *Infection and Immunity*. 2000;68(5).
27. Coban C, Ishii KJ, Kawai T, Hemmi H, Sato S, Uematsu S, et al. Toll-like receptor 9 mediates innate immune activation by the malaria pigment hemozoin. *Journal of Experimental Medicine*. 2005;201(1).
28. Clark IA, Budd AC, Alleva LM, Cowden WB. Human malarial disease: A consequence of inflammatory cytokine release. Vol. 5, *Malaria Journal*. 2006.
29. Schumann RR. Malarial fever: Hemozoin is involved but toll-free. Vol. 104, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007.
30. Parroche P, Lauw FN, Goutagny N, Latz E, Monks BG, Visintin A, et al. Malaria hemozoin is immunologically inert but radically enhances innate responses by

- presenting malaria DNA to Toll-like receptor 9. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(6).
31. Awandare GA, Ouma Y, Ouma C, Were T, Otieno R, Keller CC, et al. Role of monocyte-acquired hemozoin in suppression of macrophage migration inhibitory factor in children with severe malarial anemia. *Infection and Immunity*. 2007;75(1).
  32. Lamikanra AA, Theron M, Kooij TWA, Roberts DJ. Hemozoin (Malarial pigment) directly promotes apoptosis of erythroid precursors. *PLoS ONE*. 2009;4(12).
  33. Breman Joel G. Malaria: Clinical manifestations and diagnosis in nonpregnant adults and children [Internet]. [cited 2022 Mar 24]. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/malaria-clinical-manifestations-and-diagnosis-in-nonpregnant-adults-and-children?search=malaria%20clinical%20manifestations&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/malaria-clinical-manifestations-and-diagnosis-in-nonpregnant-adults-and-children?search=malaria%20clinical%20manifestations&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1)
  34. Svenson JE, MaClean JD, Gyorkos TW, Keystone J. Imported Malaria: Clinical Presentation and Examination of Symptomatic Travelers. *Archives of Internal Medicine*. 1995;155(8).
  35. McQueen PG, McKenzie FE. Age-structured red blood cell susceptibility and the dynamics of malaria infections. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(24).
  36. Doumbo OK, Thera MA, Koné AK, Raza A, Tempest LJ, Lyke KE, et al. High levels of *Plasmodium falciparum* rosetting in all clinical forms of severe malaria in African children. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2009;81(6).
  37. MO N. SEVERE FALCIPARUM MALARIA – PATHOPHYSIOLOGY, CLINICAL MANIFESTATIONS/ COMPLICATIONS, AND MANAGEMENT CHALLENGES IN NIGERIA. *Innovare Journal of Medical Sciences*. 2019;
  38. Hochman SE, Madaline TF, Wassmer SC, Mbale E, Choi N, Seydel KB, et al. Fatal pediatric cerebral malaria is associated with intravascular monocytes and platelets that are increased with HIV coinfection. *mBio*. 2015;6(5).
  39. Idro R, Ndiritu M, Ogutu B, Mithwani S, Maitland K, Berkley J, et al. Burden, features, and outcome of neurological involvement in acute falciparum malaria in Kenyan children. *J Am Med Assoc*. 2007;297(20).
  40. Ranque S, Safeukui I, Poudiougou B, Traoré A, Keita M, Traoré D, et al. Familial aggregation of cerebral malaria and severe malarial anemia. *Journal of Infectious Diseases*. 2005;191(5).
  41. Reyburn H, Mbatia R, Drakeley C, Bruce J, Carneiro I, Olomi R, et al. Association of transmission intensity and age with clinical manifestations and case fatality of severe *Plasmodium falciparum* malaria. *J Am Med Assoc*. 2005;293(12).

42. Lewallen S, Bronzan RN, Beare NA, Harding SP, Molyneux ME, Taylor TE. Using malarial retinopathy to improve the classification of children with cerebral malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008;102(11).
43. Mung'ala-Odera V, Snow RW, Newton CRJC. The burden of the neurocognitive impairment associated with *Plasmodium falciparum* malaria in sub-Saharan Africa. In: *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2004.
44. Christensen SS, Eslick GD. Cerebral malaria as a risk factor for the development of epilepsy and other long-term neurological conditions: A meta-analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2015;109(4).
45. Conroy AL, Hawkes M, Elphinstone RE, Morgan C, Hermann L, Barker KR, et al. Acute kidney injury is common in pediatric severe malaria and is associated with increased mortality. *Open Forum Infectious Diseases.* 2016;3(2).
46. Barsoum RS. Malarial acute renal failure. Vol. 11, *Journal of the American Society of Nephrology.* 2000.
47. White NJ. Anaemia and malaria. *Malaria Journal.* 2018;17(1).
48. Moxon CA, Gibbins MP, McGuinness D, Milner DA, Marti M. New Insights into Malaria Pathogenesis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease.* 2020 Jan 24;15:315–43.
49. Calis JCJ, Phiri KS, Faragher EB, Brabin BJ, Bates I, Cuevas LE, et al. Severe anemia in Malawian children. *Malawi Medical Journal.* 2016;28(3).
50. Casanova JL. Human genetic basis of interindividual variability in the course of infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(51).
51. World Health Organization. WHO guidelines for malaria, 3 June 2022. World Health Organization. 2022;
52. Hopkins Heidi. Laboratory tools for diagnosis of malaria. UpToDate [Internet]. 2021 [cited 2022 Mar 24]; Available from: [https://www.uptodate.com/contents/laboratory-tools-for-diagnosis-of-malaria?search=malaria&source=search\\_result&selectedTitle=6~150&usage\\_type=default&display\\_rank=6](https://www.uptodate.com/contents/laboratory-tools-for-diagnosis-of-malaria?search=malaria&source=search_result&selectedTitle=6~150&usage_type=default&display_rank=6)
53. Centers of Disease Control and Prevention C. Treatment of Malaria: Guidelines For Clinicians (United States). Centers of Disease Control and Prevention, CDC. 2020;
54. McKenzie FE, Prudhomme WA, Magill AJ, Forney JR, Permpanich B, Lucas C, et al. White blood cell counts and malaria. *Journal of Infectious Diseases.* 2005;192(2).
55. Wilson ML. Malaria rapid diagnostic tests. *Clinical Infectious Diseases.* 2012;54(11).

56. Amir A, Cheong FW, de Silva JR, Lau YL. Diagnostic tools in childhood malaria. Vol. 11, Parasites and Vectors. 2018.
57. Mbanefo A, Kumar N. Evaluation of malaria diagnostic methods as a key for successful control and elimination programs. Vol. 5, Tropical Medicine and Infectious Disease. MDPI AG; 2020.
58. Daily J. Treatment of uncomplicated falciparum malaria in nonpregnant adults and children. UpToDate [Internet]. 2021 [cited 2022 Mar 24]; Available from: [https://www.uptodate.com/contents/treatment-of-uncomplicated-falciparum-malaria-in-nonpregnant-adults-and-children?search=uncomplicated%20malaria%20nonpregnant&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/treatment-of-uncomplicated-falciparum-malaria-in-nonpregnant-adults-and-children?search=uncomplicated%20malaria%20nonpregnant&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1)
59. Varo R, Chaccour C, Bassat Q. Update on malaria. Vol. 155, Medicina Clinica. Ediciones Doyma, S.L.; 2020. p. 395–402.
60. Smithuis F, Kyaw MK, Phe O, Win T, Aung PP, Oo APP, et al. Effectiveness of five artemisinin combination regimens with or without primaquine in uncomplicated falciparum malaria: An open-label randomised trial. The Lancet Infectious Diseases. 2010;10(10).
61. Deen JL, von Seidlein L, Dondorp A. Therapy of uncomplicated malaria in children: A review of treatment principles, essential drugs and current recommendations. Vol. 13, Tropical Medicine and International Health. 2008.
62. Blanshard A, Hine P. Atovaquone-proguanil for treating uncomplicated Plasmodium falciparum malaria. Vol. 2021, Cochrane Database of Systematic Reviews. 2021.
63. Taylor E Terry. Treatment of severe malaria. UpToDate [Internet]. 2021 [cited 2022 Mar 24]; Available from: [https://www.uptodate.com/contents/treatment-of-severe-malaria?search=severe%20falciparum&source=search\\_result&selectedTitle=7~150&usage\\_type=default&display\\_rank=7](https://www.uptodate.com/contents/treatment-of-severe-malaria?search=severe%20falciparum&source=search_result&selectedTitle=7~150&usage_type=default&display_rank=7)
64. Ansong D SBKTET. Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. In: Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases. 10th ed. Elsevier; 2020. p. 734–54.
65. Ippolito MM, Moser KA, Kabuya JBB, Cunningham C, Juliano JJ. Antimalarial Drug Resistance and Implications for the WHO Global Technical Strategy. Current Epidemiology Reports. 2021;8(2).
66. Wicht KJ, Mok S, Fidock DA. Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Plasmodium falciparum Malaria. Vol. 74, Annual Review of Microbiology. Annual Reviews Inc.; 2020. p. 431–54.
67. Payne D. Spread of chloroquine resistance in Plasmodium falciparum. Vol. 3, Parasitology Today. 1987.



68. Trape JF. The public health impact of chloroquine resistance in Africa. In: *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2001.
69. Blasco B, Leroy Di, Fidock DA. Antimalarial drug resistance: Linking *Plasmodium falciparum* parasite biology to the clinic. Vol. 23, *Nature Medicine*. 2017.
70. Noedl H, Se Y, Sriwichai S, Schaecher K, Teja-Isavadharm P, Smith B, et al. Artemisinin resistance in Cambodia: A clinical trial designed to address an emerging problem in Southeast Asia. *Clinical Infectious Diseases*. 2010;51(11).
71. Slater L, Betson M, Ashraf S, Sargison N, Chaudhry U. Current methods for the detection of antimalarial drug resistance in *Plasmodium* parasites infecting humans. Vol. 216, *Acta Tropica*. 2021.
72. White NJ, Pongtavornpinyo W, Maude RJ, Saralamba S, Aguas R, Stepniewska K, et al. Hyperparasitaemia and low dosing are an important source of anti-malarial drug resistance. *Malaria Journal*. 2009;8(1).
73. Ponnampalam JT. Chemotherapy of malaria. *Annals of the Academy of Medicine Singapore*. 1981;10(1).
74. World Health Organization. Report on antimalarial drug efficacy, resistance and response 10 years of surveillance (2010-2019). 2020;
75. Travassos M, Laufer M K. Antimalarial drugs: an overview. UpToDate [Internet]. 2021 [cited 2021 Dec 5]; Available from: [https://www.uptodate.com/contents/antimalarial-drugs-an-overview?search=antimalarials&source=search\\_result&selectedTitle=1~136&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/antimalarial-drugs-an-overview?search=antimalarials&source=search_result&selectedTitle=1~136&usage_type=default&display_rank=1)
76. Shafik SH, Cobbold SA, Barkat K, Richards SN, Lancaster NS, Llinás M, et al. The natural function of the malaria parasite's chloroquine resistance transporter. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17781-6>
77. Pulcini S, Staines HM, Lee AH, Shafik SH, Bouyer G, Moore CM, et al. Mutations in the *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter, PfCRT, enlarge the parasite's food vacuole and alter drug sensitivities OPEN. Nature Publishing Group [Internet]. 2015; Available from: [www.nature.com/scientificreports](http://www.nature.com/scientificreports)
78. Hodoameda P. *P. falciparum* and Its Molecular Markers of Resistance to Antimalarial Drugs . In: *Plasmodium Species and Drug Resistance*. 2021.
79. Bopp S, Magistrado P, Wong W, Schaffner SF, Mukherjee A, Lim P, et al. Plasmepsin II-III copy number accounts for bimodal piperazine resistance among Cambodian *Plasmodium falciparum*. *Nature Communications*. 2018 Dec 1;9(1).
80. Goodman CD, Su V, McFadden GI. The effects of anti-bacterials on the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 2007 Apr 1;152(2):181–91.

81. Tilley L, Straimer J, Gnädig NF, Ralph SA, Fidock DA. Artemisinin Action and Resistance in *Plasmodium falciparum*. Vol. 32, Trends in Parasitology. 2016.
82. Rogerson SJ. Rosettes: a shield for *Plasmodium falciparum* against artemisinins? Vol. 38, Trends in Parasitology. 2022.
83. LU F, HE XL, Richard C, CAO J. A brief history of artemisinin: Modes of action and mechanisms of resistance. Chinese Journal of Natural Medicines. 2019 May 20;17(5):331–6.
84. Ataba E, Dorkenoo AM, Nguépou CT, Bakai T, Tchadjobo T, Kadzahlo KD, et al. Potential Emergence of *Plasmodium* Resistance to Artemisinin Induced by the Use of *Artemisia annua* for Malaria and COVID-19 Prevention in Sub-Saharan Region. Vol. 67, Acta Parasitologica. 2022.
85. Haldar K, Bhattacharjee S, Safeukui I. Drug resistance in *Plasmodium*. Vol. 16, Nature Reviews Microbiology. Nature Publishing Group; 2018. p. 156–70.
86. Mita T, Tanabe K. Evolution of *Plasmodium falciparum* drug resistance: implications for the development and containment of artemisinin resistance. Vol. 65, Jpn. J. Infect. Dis. 2012.
87. Balikagala B, Fukuda N, Ikeda M, Katuro OT, Tachibana SI, Yamauchi M, et al. Evidence of Artemisinin-Resistant Malaria in Africa. New England Journal of Medicine. 2021;385(13).
88. White NJ. Assessment of the pharmacodynamic properties of antimalarial drugs in vivo. Vol. 41, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1997.
89. WHO. Methods for surveillance of antimalarial drug efficacy. World Health Organization. 2009;
90. Nsanzabana C, Djalle D, Guérin PJ, Ménard D, González IJ. Tools for surveillance of anti-malarial drug resistance: An assessment of the current landscape. Vol. 17, Malaria Journal. 2018.
91. Chulay JD, Haynes JD, Diggs CL. *Plasmodium falciparum*: Assessment of in vitro growth by [<sup>3</sup>H]hypoxanthine incorporation. Experimental Parasitology. 1983;55(1).
92. Noedl H, Wongsrichanalai C, Wernsdorfer WH. Malaria drug-sensitivity testing: New assays, new perspectives. Vol. 19, Trends in Parasitology. 2003.
93. Wirjanata G, Handayani I, Prayoga P, Apriyanti D, Chalfein F, Sebayang BF, et al. Quantification of *Plasmodium* ex vivo drug susceptibility by flow cytometry. Malaria Journal. 2015;14(1).
94. Rebelo M, Tempera C, Fernandes JF, Grobusch MP, Hänscheid T. Assessing anti-malarial drug effects ex vivo using the haemozoin detection assay. Malaria Journal. 2015;14(1).
95. Witkowski B, Amaratunga C, Khim N, Sreng S, Chim P, Kim S, et al. Novel phenotypic assays for the detection of artemisinin-resistant *Plasmodium*

- falciparum malaria in Cambodia: In-vitro and ex-vivo drug-response studies. *The Lancet Infectious Diseases*. 2013;13(12).
96. Rasmussen C, Alonso P, Ringwald P. Current and emerging strategies to combat antimalarial resistance. Vol. 20, *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2022.
  97. White NJ. Delaying antimalarial drug resistance with combination chemotherapy. Vol. 41, *Parassitologia*. 1999.
  98. White N. Antimalarial drug resistance and combination chemotherapy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 1999;354(1384).
  99. Rosenthal PJ. Are three drugs for malaria better than two? Vol. 395, *The Lancet*. 2020.
  100. Sutherland CJ. Rescuing artemisinin combination therapy in Africa. Vol. 5, *The Lancet Global Health*. 2017.
  101. Bassat Q, Tanner M, Guerin PJ, Stricker K, Hamed K. Combating poor-quality anti-malarial medicines: A call to action. Vol. 15, *Malaria Journal*. 2016.
  102. Edwards HM, Canavati SE, Rang C, Ly P, Sovannaroeth S, Canier L, et al. Novel cross-border approaches to optimise identification of asymptomatic and artemisinin-resistant *Plasmodium* infection in mobile populations crossing cambodian borders. *PLoS ONE*. 2015;10(9).

## 8. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 29. lipnja 1997. godine u Zagrebu. Godine 2011. završio sam Osnovnu školu Brestje, a 2015. godine sam završio II. gimnaziju u Zagrebu. Iste godine upisao sam Medicinski fakultet u Zagrebu. Tijekom studija bio sam aktivni član Međunarodne udruge studenata medicine Hrvatska – CroMSIC, u kojoj sam osim kao volonter tijekom svih godina studija, dvije godine bio i lokalni koordinator projekta „Budi mRAK“ za koji sam 2021. godine dobio Dekanovu nagradu. Zbog velikog zanimanja za infektologiju 2019. godine se uključujem u Studentsku sekciju za infektologiju, a od 2021. godine sam u njezinom vodstvu. U sklopu Sekcije za infektologiju sam tijekom pandemije COVID-19 do kraja studija odradio 405 sati, volontirajući na hitnom prijemu Klinike za infektivne bolesti dr. Fran Mihaljević u sklopu projekta „Volontiraj na Zaraznoj“, za što sam dobio Posebno priznanje Rektora Sveučilišta. Odlično govorim engleski jezik, a vrlo dobro se služim i njemačkim jezikom.