

# Visceralna lišmanioza

---

Hrastić, Marta

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:105:460585>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-04**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**Marta Hrastić**

**Visceralna lišmanioza**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2024.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“  
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Nevena Papića i  
predan je na ocjenu u akademskoj godini 2023./2024.

## POPIS KRATICA

AIDS - sindrom stečene imunodeficijencije (eng. *acquired immunodeficiency syndrome*)

ALT - alanin transaminaza

AST - aspartat transaminaza

CARS - sindrom kompenzatornog protuupalnog odgovora ( eng. *compensatory anti-inflammatory response syndrome*)

CCR - C- C kemokinski receptor

CD - klaster diferencijacije (eng. *cluster of differentiation*)

DNA - deoksiribonukleinska kiselina (eng. *deoxyribonucleic acid*)

HAART - visoko aktivna antiretrovirusna terapija (eng. *highly active antiretroviral therapy*)

HIV - virus humane imunodeficijencije

HIV-VL - virus humane imunodeficijencije i visceralna lišmanioza

HLH - hemofagocitna limfohistiocitoza

IL - interleukin

IFN- $\gamma$  - interferon gamma

L-AMB - liposomalni amfotericin B

PKDL - post kala-azar dermalna lišmanioza

pH - snaga vodika (eng. *potential of hydrogen*)

RH - Republika Hrvatska

SZO - Svjetska zdravstvena organizacija

Th - T pomoćničke stanice (eng. *T helper cell* )

VL - visceralna lišmanioza

# Sadržaj

SAŽETAK

SUMMARY

1. Uvod.....	1
2. Uzročnik.....	2
3. Epidemiologija.....	3
4. Patogeneza.....	5
5. Klinička slika.....	7
5.1 Komplikacije.....	8
6. Posebni oblici bolesti.....	10
6.1 Visceralna lišmanioza i HIV.....	10
6.2 Post kala-azar dermalna lišmanioza (PKDL).....	10
6.3 Visceralna lišmanioza u trudnica.....	12
7. Dijagnoza.....	13
7.1 Mikroskopija.....	13
7.2 Serološke metode.....	14
7.3 Molekularna dijagnostika.....	14
7.4 Dijagnoza HIV-VL koinfekcije.....	15
8. Liječenje.....	17
8.1 Liposomalni amfotericin B (L-AMB).....	17
8.2 Antimonijalni lijekovi i paromomicin.....	17
8.3 Miltefosin.....	18
8.4 Primjena terapije u HIV-VL koinfekciji.....	18
9. Prevencija.....	19
9.1 Program eliminacije na Indijskom potkontinentu.....	19
9.2 Intervencije usmjerene rezervoarima infekcije.....	20
9.3 Cjepivo.....	21
10. Zaključak.....	22
11. Zahvale.....	23
12. Literatura.....	24
13. Životopis.....	32

## SAŽETAK

Naslov rada: Visceralna lišmanioza

Autor: Marta Hrastić

Visceralna lišmanioza spada u zanemarene tropske bolesti (eng. *NTD, Neglected tropical disease*) i gorući je javnozdravstveni problem u slabije razvijenim zemljama. Još se naziva i kala-azar, odnosno crna bolest na hindski, jer može dovesti do crnosivog obojenja kože. Budući da neliječena uzrokuje smrtnost u preko 95% slučajeva, liječenje bolesti je imperativ. Posebnu problematiku predstavlja dermalna sekvela bolesti pod nazivom post kala-azar dermalna lišmanioza. Naime, nakon izliječene visceralne lišmanioze moguć je razvoj dermalnih simptoma s odmakom koji varira od nekoliko mjeseci do par godina. Nije u potpunosti jasno nastaje li kao posljedica perzistencije parazita ili reinfekcije, no pacijenti s ovim oblikom bolesti predstavljaju važan izvor infekcije i time otežavaju eliminaciju bolesti. Osim toga, bilježi se i porast HIV-VL koinfekcije koju karakteriziraju učestali relapsi i slabiji odgovor na terapiju. Iako je u nekim zemljama postignut značajan napredak u kontroli bolesti, klimatske promjene, siromaštvo i brojne migracije pogoduju opstanku *Leishmania* spp., stoga su potrebni daljnji naponi ne bi li se spriječilo širenje bolesti i uspostavila kontrola u endemskim zemljama.

Ključne riječi: NTD, kala-azar, PKDL, HIV-VL, endemske zemlje

## **SUMMARY**

Title: Visceral Leishmaniasis

Author: Marta Hrastić

Visceral leishmaniasis is categorized as a neglected tropical disease (NTD) and represents critical public health issue in less developed countries. It is also known as kala-azar, or black sickness in Hindi, because it can lead to black or gray discoloration of the skin. Due to the fact that untreated cases result in a mortality rate of over 95%, treating the disease is a necessity. Another important issue is the dermal sequela of the disease called post-kala-azar dermal leishmaniasis. After being cured of visceral leishmaniasis, dermal symptoms may develop, with an onset ranging from several months to a few years. It is still not clear whether this occurs as a result of persistent parasites or reinfection, but patients with this form of the disease represent an important source of infection and consequently complicating efforts to eliminate the disease. Moreover, rises in HIV-VL co-infection are being recorded, recognizable by frequent relapses and a poor outcome to treatment. Although meaningful progress has been made in some countries in controlling the disease, climate change, poverty, and numerous migrations favor the survival of *Leishmania* spp., further efforts are needed in order to stop the spreading of the disease and for gaining control over the disease in endemic countries.

Key words: NTD, kala-azar, PKDL, HIV-VL, endemic countries

## 1. UVOD

Visceralna lišmanioza je parazitarna bolest uzrokovana obligatnim unutarstaničnim parazitima porodice *Trypanosomatidae* i roda *Leishmania*. Glavne vrste lišmenije koje dovode do ovog kliničkog sindroma su *L.donovani* i *L.infantum*. Uzročnik ostvaruje svoj životni ciklus unutar vektora, mušice roda *Phlebotomus* i *Lutzomyia*, i rezervoara kojeg čine raznovrsni sisavci. U prijenosu parazita sudjeluju isključivo ženke insekata. Mušice muškog roda nemaju ulogu u transmisiji jer su njihova usta preslabo razvijena da bi probili kožu u svrhu hranjenja (1). U Republici Hrvatskoj ovi se prijenosnici kolokvijalno nazivaju i papatači (2).

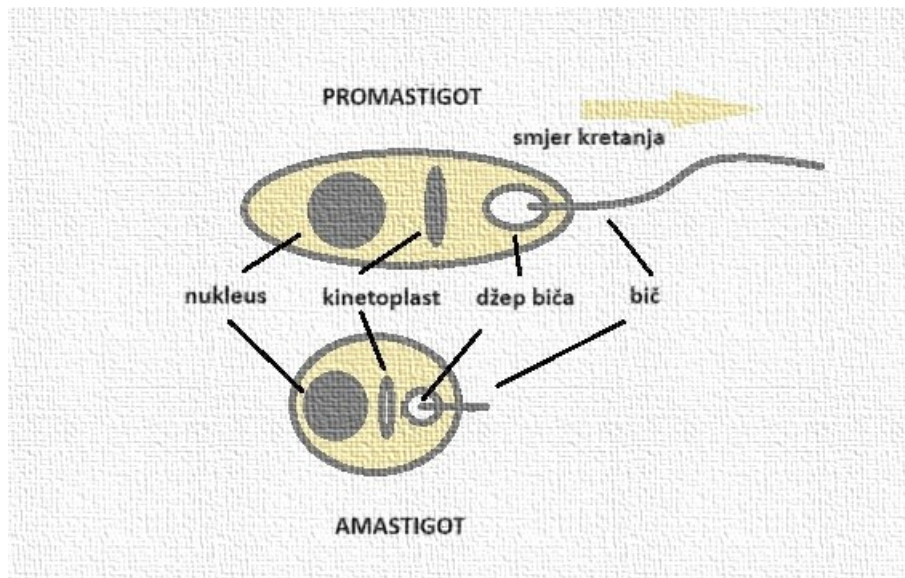
Globalno zatopljenje, nepovoljni životni uvjeti i siromaštvo pogoduju širenju vektora na gotove sve kontinente (izuzev Antartike i Australije koja uglavnom bilježi importirane slučajeve). Pretežno je riječ o zoonozama s izuzetkom *L.tropica* (uzrokuje kutanu lišmaniozu) i *L.donovani*, čiji je rezervoar čovjek, stoga se one ubrajaju u antroponoze. Rjeđi je način prijenosa putem igala za intravensku primjenu droga, presadbom organa, transfuzijom krvi, inokulacijom u laboratoriju te s majke na dijete. Lišmenije se javljaju u nepokretnom amastigotnom obliku u rezervoaru te pokretnom i većem promastigotnom obliku unutar vektora (3). Zoofilne lišmenije primarno cirkuliraju između životinja i insekata dok je čovjek samo slučajna žrtva. Rezervoar im čine razne životinje poput glodavaca, divljih sisavaca ili pasa. U svrhu određivanja životinje domaćina potrebno je napraviti opsežne ekološke studije te pronaći dokaze koji govore u prilog nužnosti postojanja navedenog domaćina za opstanak parazita. Pronalazak infekcije u većeg broja određene vrste sisavaca nije dovoljan da bi se klasificirali kao domaćini, već moraju zadovoljiti specifične uvjete (dovoljno dugo postojanje vrste na tom području, kontinuiran kontakt između vektora i domaćina, velik broj parazita u koži ili krvi kako bi se vektor mogao zaraziti ponovno). U većini slučajeva postoji jedan dominantan domaćin za pojedinu vrstu lišmenije te nekoliko slučajnih koji se zaraze jer žive na istom prostoru kao i primaran domaćin (1).

Na području Republike Hrvatske endemska je *L.infantum*, a njen je najznačajniji rezervoar s medicinskog, kao i veterinarskog gledišta, pas (2).



## 2. UZROČNIK

Osnovne su građevne jedinice ovog parazita jezgra, kinetoplast, Golgijev aparat u području džepa biča i bič. Kinetoplast se nalazi ispred jezgre, a čini ga ulančana masa mitohondrijske DNA. Postoje dva temeljna morfološka oblika *Leishmania* spp., a to su amastigot i promastigot. Potonji karakterizira ovalno tijelo i dugačak, pokretan bič. Suprotno tome, amastigot je manji, sferična izgleda s nepokretnim, jedva vidljivim bičem. Smatra se da na prelazak jednog oblika u drugi, između ostalog, utječe temperatura i pH, no to nije dovoljan poticaj za preobrazbu. U skladu s time, ispituju se potencijalni kemijski okidači unutar vektora koji bi omogućili promastigotnu morfologiju, kao što je slučaj s plazmodijem i ksanturenskom kiselinom (4).



**Slika 1.** Shematski prikaz morfoloških oblika *Leishmania*

Nadalje, za održavanje životnog ciklusa vrlo je važan bič. Nakon hranjenja mušice krvlju i ingestije parazita, kako bi se spriječilo izbacivanje defekacijom, aktivnim kretanjama biča dolazi do migracije u srednje crijevo. Pri ponovnom hranjenju doći će do daljnjeg pomaka prema usnoj regiji i posljedičnog ulaska uzročnika u domaćina. Međutim, bič posjeduje i senzornu funkciju koja mu, pretpostavlja se, omogućava procjenu stanja makrofaga posredstvom metabolita. Dakle, u povoljnom stanju makrofaga *Leishmania* se dijeli, ali

kada detektira apoptotične signale dijeljenje će odgoditi (4). Replikacija se odvija unutar fagolizosoma, a čvrsta površinska ovojnica štiti je od litičke aktivnosti makrofaga (3).

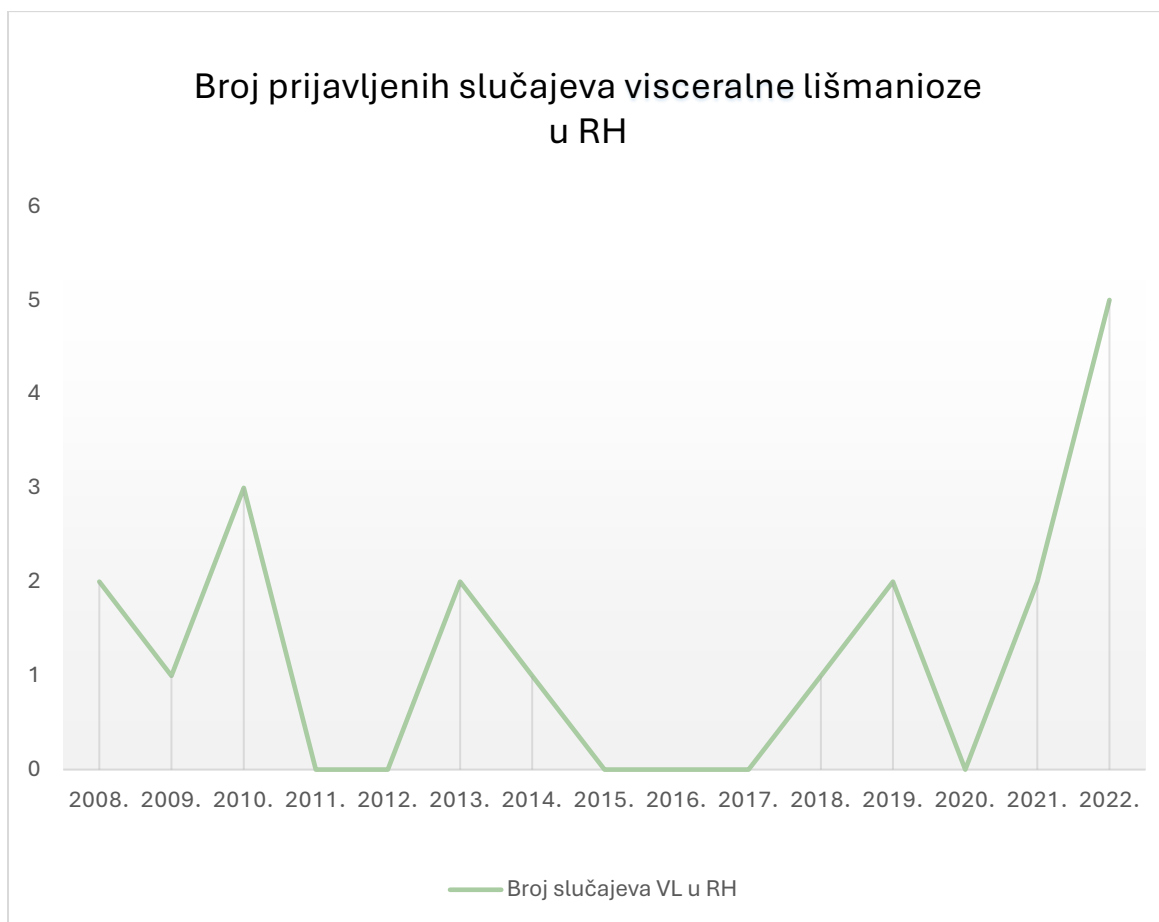
### 3. EPIDEMIOLOGIJA

Prema SZO (Svjetska zdravstvena organizacija) javlja se 700 000 do 1 milijun novih slučajeva lišmanioze godišnje, najčešće zahvaćajući siromašna područja s lošim higijenskim uvjetima, manjkom financijskih resursa i već oslabljenim imunim sustavom u stanovnika. Najteži od svih oblika upravo je VL (visceralna lišmanioza) jer neliječena dovodi do smrti u preko 95% slučajeva. Procjenjuje se pojavnost od 50 000 do 90 000 novih slučajeva godišnje s nekonzistentnim prijavama slučajeva (5).

Zemlje najviše pogođene ovim kliničkim sindromom su Istočna Afrika (Etiopija, Sudan, Somalija, Kenija i dr.) koja sačinjava 45% ukupnog svjetskog pobola, zatim Indijski potkontinent s udjelom od 28% te Brazil s 20% ukupno prijavljenih slučajeva na svjetskoj razini (5,6). Podatci pokazuju nešto veću prevalenciju bolesti u muškaraca nego žena s rasponom 1,2 - 2,2 ovisno o državi (7).

U RH visceralna lišmanioza zabilježena je još 1911. godine. Bolest je endemska na području Južne i Srednje Dalmacije te otocima s prosječnom pojavnosti od 5 slučajeva godišnje (3,8). Porast incidencije uočen je u periodu Domovinskog rata što se pripisuje lošijim životnim uvjetima te povećanju broja pasa lotalica (9). Visceralna se lišmanioza u Hrvatskoj smatrala pretežno pedijatrijskom bolešću jer je gotovo polovina slučajeva (47,8%) zabilježena u dobi 0-14 godina u periodu od 1954. do 2006. godine (10). Istraživanjem seroprevalencije u zdravoj populaciji endemskog područja te dvije regije kontinentalne Hrvatske u periodu 2007. – 2009. godine uočena je bimodalna distribucija s pikovima u dobi 0-19 godina te 40-49 godina što ukazuje da bolest nije izolirana na pedijatrijsku dob (11).

Sličan pomak u dobnoj raspodjeli zabilježen je i u Europi što se pripisuje porastu HIV infekcije te korištenju imunosupresiva u liječenju autoimunih bolesti i u transplantiranih osoba.



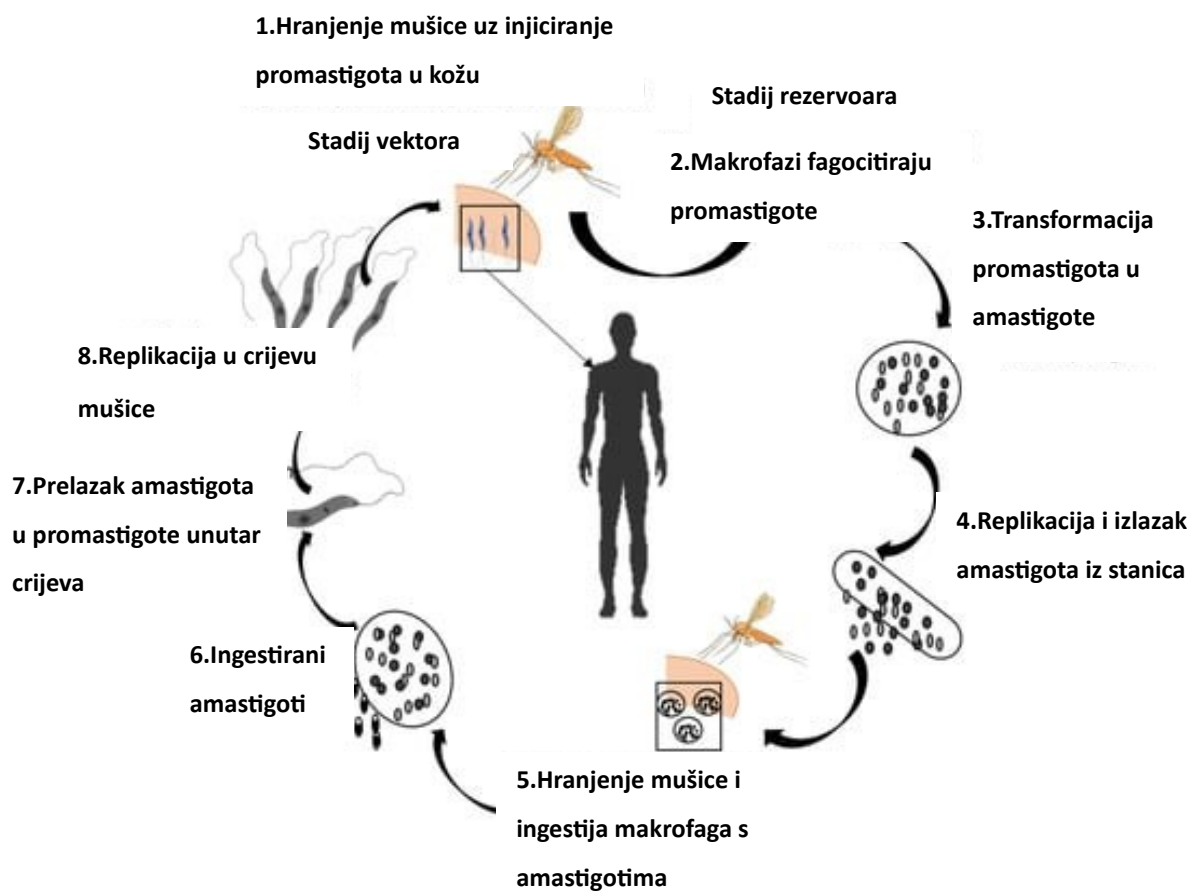
**Slika 2.** Kretanje visceralne lišmanioze u Republici Hrvatskoj prema podacima Hrvatskog zdravstveno-statističkog ljetopisa iz 2022. godine (12)

#### 4. PATOGENEZA

Tijekom hranjenja ženke mušice promastigoti ulaze u organizam domaćina gdje unutar nekoliko sati bivaju fagocitirani i nalaze se u svom izvornom obliku bez mogućnosti replikacije u neutrofilima. Inficirani neutrofili zatim proizvode kemokine i slijedi migracija makrofaga na mjesto infekcije. Apoptotični signali uzrokuju antiinflamatorno okruženje posljedično čemu se javlja fagocitoza neutrofila s patogenom. Ovaj je mehanizam poznat pod nazivom „Trojanski konj“, nasuprot tome postoji i „Trojanski zec“ kojega karakterizira fagocitoza ekstracelularnog promastigota koji izađe iz umirućih neutrofila. Unutar makrofaga promastigot prelazi u amastigotan oblik. Proizvodnja antiinflamatornih signala iz umirućih stanica omogućava *Leishmania spp.*, da se održi u makrofazima i neometano replicira, dovodeći u konačnici do ruptur stanice s oslobađanjem brojnih amastigota koji iznova invadiraju stanice retikuloendotelnog sustava (13). Oslobođeni paraziti mogu biti ponovno ingestirani tijekom hranjenja ženke i na taj se način parazit održava u ekosustavu.

Nakon infekcije dolazi do nastanka jednog od tri klinička sindroma: kutana, mukokutana i visceralna lišmanioza što ovisi o imunskom sustavu domaćina, kao i vrsti lišmenije. Koristeći se mehanizmima izmjene signalnih puteva i intracelularnih kinaza uzročnik nastoji održati makrofage u inertnom stanju i djelovati na urođenu i specifičnu imunost. Prevalencija Th1 imunskog puta rezultira boljom kontrolom infekcije te ispoljavanjem mukokutanih simptoma zbog jake celularne imunosti i destrukcije stanica. S druge strane, Th2 sustav koji djeluje putem protutijela manje je učinkovit u kontroliranju parazitemije i uništavanju unutarstaničnog parazita što dovodi do diseminirane visceralne bolesti (14). Posebno se ističe uloga citokina IFN- $\gamma$  i IL-12 u kontroli infekcije sprječavanjem razvoja amastigota u stanici, suprotno tome IL-10 suprimira njihovu sekreciju i pogoduje diseminaciji infekcije. Eksperimentalnim je istraživanjima dokazana niska produkcija IFN- $\gamma$  u CD 8+ stanicama kod pacijenata oboljelih od VL što se povezuje s iscrpljenošću tih stanica i rezultira prevagom patogena. Posljedično izlječenju, CD 8+ stanice pokazuju normalne razine IFN- $\gamma$  (15,16). Nadalje, proteini iz sline vektora (*P.papatasi*, *L.longipalpis*) modificiraju obrambeni sustav domaćina tako što povećavaju ekspresiju IL-10 ili pak smanjuju aktivnost i lučenje proinflammatoryh citokina omogućavajući tako preživljenje parazita (17). Osim spomenutih citokina značajnu bi ulogu mogli imati i IL-17 te IL-22 sukladno ulozi u regrutiranju neutrofila i Th1 stanica, a uz to jačaju epitelnu barijeru i pomažu regeneraciju tkiva (18).

Obzirom na važnost imunskog sustava u obrani od parazita, osobe s oštećenom funkcijom imunološkog sustava prijemčljivije su na infekciju i sklone razvoju težih kliničkih slika, shodno tome posljednjih se godina bilježi porast koinfekcije virusom HIV-a i parazita lišmenije s razvitkom teških oblika visceralne lišmanioze, a zbog visoke infektivnosti takvih pacijenata pomaže se transmisija bolesti (19).



**Slika 3.** Životni ciklus lišmenije unutar vektora i domaćina. Preuzeto i prilagođeno iz Rabaan i sur., 2023.

## 5. KLINIČKA SLIKA

Nakon izlaganja viscerotropnoj lišmeniji u većini će slučajeva doći do razvitka asimptomatske infekcije, tek će se u manjem broju ljudi razviti vidljiva klinička slika (20). Značajke bolesti razvijaju se postepeno s prosječnom inkubacijom 2 – 6 mjeseci, no raspon seže od 10 dana do više od godinu dana. Obzirom na intracelularnu prirodu parazita i ovisnost o makrofazima simptomi će se prvenstveno ispoljiti na organima u svezi s retikuloendotelnim sustavom, dočim će se u laboratorijskim nalazima isticati hematološke promjene. Uobičajeni simptomi su vrućica, malaksalost, anoreksija te osjetljivost u lijevom hipohondriju, a od kliničkih znakova prevladavaju splenomegalija uz hepatomegaliju uslijed repliciranja parazita unutar monocitno-makrofagnog sustava i učestali nalaz anemije kojoj doprinosi aktivnost sustava komplementa (1,21). Vrućica je obično remitentna, ali može biti i intermitentna ili rjeđe kontinuirana. Ponekad se može uočiti tamnije pigmentirana koža, odakle i naziv kala-azar, karakteristična za područje Indije (22).

Deterioracijom bolesti u laboratorijskim nalazima vidljiva je pancitopenija uzrokovana hipersplenizmom združeno sa supresijom koštane srži nakon infiltracije lišmenijom. Također, uočava se hiperglobulinemija i poliklonalna aktivacija B limfocita posredovana IL-6. U poodmaklom stadiju, kao posljedica oštećenja jetrene funkcije, javlja se hipoalbuminemija, ascites, žutica te poremećaji koagulacije (23,24).

Razmišljajući diferencijalno-dijagnostički, opći simptomi kao što su to vrućica, malaksalost, gubitak na težini, zajednički su raznovrsnim patološkim stanjima (tuberkuloza, malarija, histoplazmoza, limfomi). Stoga je u svrhu ispravnog postavljanja dijagnoze uputno napraviti kompletan klinički status i uzeti opsežnu anamnezu s naglaskom na epidemiološku i socijalnu, to jest pitati za nedavna putovanja, boravak izvan zemlje prebivališta, radne i životne uvjete (21).

## 5.1 Komplikacije

### 5.1.1 Bakterijske koinfekcije

Bakterijska je koinfekcija najčešći uzrok smrti u pacijenata. Dugotrajan boravak u bolnici radi adekvatnog saniranja tegoba rizičan je čimbenik za stjecanje nozokomijalnih infekcija. Sklonost zarazi gram pozitivnim ili negativnim bakterijama objašnjava se anergijom limfocita nastalom kao rezultat pretjeranog stvaranja regulatornih citokina, zatim poremećenom funkcijom slezene i malnutricijom. Težak oblik VL nalikuje bakterijskoj sepsi u nekoliko segmenata. Prvo, snažna proizvodnja proinflamatornih citokina potiče razvijanje komplikacija i porast mortaliteta. Drugo, odgovor organizma na opterećenje parazitom u konačnici se očituje porastom TGF- $\beta$  i IL-10 što se može usporediti s CARS-om (eng. *compensatory anti-inflammatory response syndrome*) u bakterijskoj sepsi. Dakle, profil citokinske proinflamatorne i regulatorne aktivnosti u teškoj lišmaniozi usporediv je s onim u sepsi (20).

### 5.1.2 Krvarenje

Nastup hemoragije varira od pojave epistakse, krvarenja desni i petehija do opsežnog unutarnjeg krvarenja te nastanka hipovolemijskog šoka. Testovi koagulacije su produljeni, D-dimeri visoki, a broj trombocita smanjen. U pozadini se često krije diseminirana intravaskularna koagulacija čiji su okidači IL-6 i IL-1 $\beta$  uz posljedičnu povećanu ekspresiju tkivnog faktora na stanicama i aktivaciju vanjskog puta zgrušavanja (20).

### 5.1.3 Hemofagocitna limfohistiocitoza (HLH)

Kao rijetka, ali opasna komplikacija izdvaja se hemofagocitna limfohistiocitoza koju obilježava snažna reakcija imunskog sustava prema vlastitim, zdravim stanicama. Samim time, u laboratorijskim nalazima dominiraju promjene u krvnoj slici. Vrućica, hepatomegalija i/ili splenomegalija, kožni osip, zahvaćanje pluća i neurološke abnormalnosti neki su od klasičnih znakova HLH. U većini endemskim zemalja javlja se s prevalencijom od 1% , dok je u Brazilu zabilježena 15 puta veća učestalost ovog sindrom i to pretežno u pedijatrijskih pacijenata (25,26). Postavljanje dijagnoze može se olakšati kalkulatorom vjerojatnosti (HScore) dostupnim na internetu (26) .

### 5.1.4 Malnutricija

Malnutricija se dijeli na primarnu, i kao takva predstavlja rizični čimbenik za stjecanje infekcije, i sekundarnu, nastalu kao posljedica visceralne lišmanioze. Na razvitak

sekundarne utječu albumin i negativni reaktanti akutne faze. Manjak albumina reflektira se reduciranim transportom mikronutrijenata poput cinka. Sukladno tome, nedostatak retinol-vezajućeg proteina i transtiretina smanjuje dostupnost vitamina A, važnog za obrambenu funkciju organizma (20).

### **5.1.5 Renalni i ostali poremećaji**

Zabilježeni su poremećaji bubrežne funkcije te rijedak slučaj intestinalne lišmanioze s infiltracijom duodenuma u imunokompetentne osobe (27–29). Zahvaćanje bubrega manifestira se hematurijom, proteinurijom i povišenim nalazima kreatinina. Na patohistološkom nalazu opažena je pojava intersticijskog nefritisa i glomerulonefritisa. Promjene su reverzibilne pri upotrebi odgovarajuće terapije (30). Znakovi malapsorpcije u vidu hipokalcijemije, niskog vitamina D, sniženih serumskih lipida uz hipoalbuminemiju, ali odsutnost proteinurije i drugih gastrointestinalnih tegoba opisani su u literaturi kao primjer proširenja bolesti na gastrointestinalni sustav (27). Ukoliko postoje opći znakovi infekcije sukladni VL-i, utoliko bi kliničari trebali posumnjati na spomenutu komplikaciju te primijeniti eradikacijsku terapiju zajedno sa suportivnim mjerama (suplementacija vitamina D, kalcija).

Pacijenti koji se prezentiraju sa simptomima poput žutice, koinfekcije HIV-om, tuberkulozom, dobi iznad 60 godina, edemima, krvarenjem iz gingiva, epistaksom i sl. združeno uz laboratorijske nalaze hemoglobina  $\leq 65$  g/L, AST/ALT  $> 100$  U/L imaju veći rizik smrtnosti (31,32).



## 6. POSEBNI OBLICI BOLESTI

### 6.1 Visceralna lišmanioza i HIV

Prvi slučaj koinfekcije HIV-VL zabilježen je 80-ih godina prošlog stoljeća na području Južne Europe. Danas se bilježi porast ovog fenomena u većini država endemskih za VL što se može pripisati preklapajućoj geografskoj slici prevalencije HIV-a i VL (Afrika, Jugoistočna Azija, Latinska Amerika), dok je u Europi došlo do pada incidencije zahvaljujući primjeni HAART (eng. *highly active antiretroviral therapy*) te dostupnosti sterilnih igala kako bi se spriječila razmjena među ovisnicima (33,34). U Indiji je procijenjena prevalencija HIV infekcije u oboljelih od VL oko 3,4% (35). S jedne strane, visceralna lišmanioza potpomaže progresiju HIV-a prema AIDS fazi, dočim infekcija HIV-om oboljele čini osjetljivijima na zarazu *Leishmania* spp., i dovodi do razvitka vidljive kliničke slike, odnosno aktivacije latentne infekcije. Analizom imunološkog profila u koinficiranih dokazan je porast broja CCR5 receptora na CD8+ citotoksičnim limfocitima koji igra važnu ulogu u patogenezi HIV-a (36). Klinička je prezentacija uglavnom slična onoj u imunokompetentnih s manjim stupnjem visceromegalije te mogućim izostankom temperature. No, česte su atipične kliničke slike sa zahvaćanjem gastrointestinalnog sustava, hemoragičnim incidentima, kašljem, pleuralnom efuzijom, izraženom malaksalošću i gubitkom na težini. Amastigoti se stoga mogu dokazati na brojnim atipičnim lokacijama poput bronhoalveolarnog lavata, pleuralne tekućine ili biopsijom gastrointestinalnog trakta. Brojne oportunističke infekcije u HIV bolesnika dijele spomenutu simptomatiku i maskiraju dijagnozu VL čime je omogućena progresiju bolesti povezana s povećanom smrtnošću i lošijom prognozom. Dodatno, ove pacijente karakterizira lošiji odgovor na terapiju i sklonost relapsu u većoj mjeri od pacijenata bez koinfekcije HIV-om (37–40).

### 6.2 Post kala-azar dermalna lišmanioza (PKDL)

Početkom 20. stoljeća opisan je slučaj atipične kutane lišmanioze u pacijenata izliječenih kala-azar bolesti primjenom antimonijalnih injekcija. Lezije na koži nalikovale su infekciji s *M.leprae*, ali bacili lepre nisu bili nađeni već je analizom sadržaja nodularnih i papularnih tvorbi pronađen parazit *Leishmania* spp. (41). Izuzev kožnih promjena prvenstveno u području lica, ruku i trupa, druge anomalije u kliničkom statusu nisu uočene, periferna krvna slika je uredna. Zajedničko obilježje oboljelih bilo je

prebolijevanje visceralne lišmanioze unazad nekoliko mjeseci do par godina, s izuzetkom manjeg broja pojedinaca u kojih kala-azar nije zabilježen, ali su dolazili iz endemskih područja. Kao glavni uzročnik identificirana je *L. donovani* (41,42). Od prvih zabilježenih slučajeva na području Indije pa do danas uočen je pozitivan trend u rastu post kala-azar dermalne lišmanioze i to primarno u 6 zemalja: Etiopija, Sudan, Južni Sudan, Bangladeš, Indija i Nepal. Predložene su mjere aktivnog traženja oboljelih kako bi se suzbila transmisija jer oboljeli predstavljaju rezervoar infekcije i prijetnju u iskorjenjivanju VL (43). Postoji nekoliko teorija o nastanku PKDL od kojih se izdvajaju povezanost terapije natrijevim stiboglukonatom s razvitkom bolesti ili neadekvatna primjena lijekova, polimorfizmi receptora za IFN- $\gamma$ , a imajući u vidu predilekcijska mjesta koja su pretežno na dijelovima tijela izloženima Suncu i UV zrake su razmatrane kao potencijalni uzročnik. Još se uvijek sa sigurnošću ne može odrediti dolazi li do perzistencije parazita ili reinfekcije, iako više nalaza govori u korist posljednjem (44,45). Izoliranje parazita u pacijenata s VL-om, zatim ponovna izolacija kod razvitka PKDL mogla bi razriješiti navedenu problematiku, premda dug period između kraja jedne i početka druge patologije to značajno otežava. Iznimku predstavlja Sudan gdje je razvoj PKDL moguć za vrijeme ili ubrzo nakon izlječenja pa se nekad naziva i para kala-azar dermalna lišmanioza (44).

Promjene na koži mogu se podijeliti na monomorfne (hipopigmentirane makule) te polimorfne (papule, plakovi, nodusi, pustule i sl.) s početnom lezijom u blizini usta i/ili nosa s postupnom progresijom u veličini i opsegu zahvaćenog područja (46). Zlatni standard u dijagnostici je dokaz uzročnika mikroskopskim pregledom materijala dobivenog incizijom, struganjem i razmazom dijela lezije na stakalcu, osim toga i PCR dijagnostika se pokazala perspektivnom zahvaljujući visokoj osjetljivosti. Ipak, u endemskom području dijagnoza se uglavnom postavlja na temelju kliničke slike, anamnestičkog podatka o preboljenju VL te dokazom protutijela na rK39, epitopa amastigota *Leishmanie* (45). Od terapijskih opcija prednjači primjena miltefosina i liposomalnog amfotericina B kroz nekoliko mjeseci. Adherencija je na navedenu terapiju slaba čemu doprinosi toksičnost lijekova, kao i potreba za dugotrajnim korištenjem istih. Relativni manjak studija na ovome području otežava otkriće optimalnog lijeka i odgovarajuće doze (47). Iz navedenog je jasno kako ova tematika zahtijeva daljnja istraživanja i bitan je faktor u širenju, odnosno prevenciji nastanka visceralne lišmanioze.

### 6.3 Visceralna lišmanioza u trudnica

Trudnoća je stanje obilježeno mnogobrojnim izmjenama funkcije organa i organskih sustava. S imunološkog gledišta, uočava se pad u aktivnosti stanične imunosti, a raste humoralna. Drugim riječima, obrambeni mehanizam potaknut Th2 stanicama dominantan je nad Th1 staničnim putem. U teoriji, ovaj obrazac pogoduje razvitku visceralne lišmanioze, no u literaturi se ne nalaze podatci o povećanom riziku ili incidenciji među trudnicama (48). Suspektne pokazatelji u trudnica su temperatura, gubitak na težini, nizak hemoglobin i, kao i uvijek, podatak o boravku u endemskim zemljama. Epidemiološka anamneza uvelike pomaže jer se neki od znakova, primjerice krvarenje, često pripisuju samoj trudnoći kao uzročnom čimbeniku i na taj način preusmjeravaju pogled od stvarne patologije. Drugi je primjer hepatosplenomegalija koju je teško klinički utvrditi zbog fizionomije trudnoće. Hospitalizacija i liječenje farmaceuticima su obavezni jer u suprotnom može doći do pobačaja, kongenitalne VL i izražene anemije. Preporuka je korištenje liposomalnog amfotericina B, a nikako miltefosina zbog njegova teratogena potencijala (48,49).

**Tablica 1.** Usporedni prikaz kliničkih sindroma iz teksta

	<b>VL</b>	<b>HIV-VL</b>	<b>PKDL</b>
<b>Klinička slika</b>	Klasična uz vrućicu, malaksalost, visceromegaliju	Često atipična sa zahvaćanjem pluća, gastrointestinalnog sustava, sluznica i kože	Širok spektar kožnih manifestacija
<b>Dijagnoza</b>	Mikroskopija (aspirat slezene, k.srži), PCR, rK39	Mikroskopija, PCR	Mikroskopija (uzorak kožne lezije), PCR, rK39
<b>Liječenje</b>	L-AMB ili Natrijev stiboglukonat + paromomicin	L-AMB + miltefosin i HAART	Miltefosin + L-AMB
<b>Osobitosti</b>	Često asimptomatska infekcija	Relapsi, sekundarna profilaksa	Važan izvor infekcije

## **7. DIJAGNOZA**

Dijagnostičke metode mogu se podijeliti na: dokazivanje parazita iz aspirata zahvaćenih tkiva mikroskopski, pronalazak specifičnih protutijela u serumu i molekularne metode detekcije.

### **7.1 Mikroskopija**

Direktna vizualizacija parazita putem mikroskopa široko je rasprostranjena i učestalo primjenjivana u endemskim zemljama kao metoda izbora. Karakterizira je visoka specifičnost, dok osjetljivost varira ovisno o organu (preko 90% za aspirat slezene, 60-85% za uzorak koštane srži, 52-58% za uzorak limfnog čvora) (50). Preparati se boje po

Leishmanu ili Giemsi te se kao rezultat uočava ovalno ili okruglo tjelešce amastigota sa svjetloplavom citoplazmom i crvenom jezgrom koje se uobičajeno nalazi unutar makrofaga. Nedostaci ove metode su rizik od krvarenja ili perforacije crijeva pri aspiraciji slezene, bolnost i neugoda za pacijente, nemogućnost izvođenja na razini primarne zdravstvene zaštite te varijabilna osjetljivost uvelike ovisna o iskustvu osoblja koje ju provodi. Kultivacija uzročnika još je jedna od mogućnosti, no rijetko se provodi jer je vremenski i izvedbeno zahtjevna (50,51).

## 7.2 Serološke metode

U slabije razvijenim zemljama gdje postoji manjak stručnog kadra i nedostatak laboratorijske opreme, dijagnoza se potvrđuje serološkim testovima u pojedinaca koji su klinički visoko suspektni na VL. Od postojećih metoda ističe se imunokromatografski rK39 brzi dijagnostički test zahvaljujući jednostavnosti izvođenja, dostupnosti i prihvatljivoj cijeni. Izvodi se ubodom prsta, zatim slijedi razmaz kapljice krvi na test traku i na kraju se umoči u pufer uz očitavanje rezultata kroz 15 minuta. Međutim, ovaj test ne može raspoznati aktivnu infekciju od izlječenja obzirom da protutijela ostaju pozitivna mjesecima nakon uspješno provedene terapije (21,51). Kao alternativa rK39 brzom dijagnostičkom testu u Brazilu je objavljeno istraživanje bazirano na LiHyp1 proteinu i  $\beta$ -tubulinu s obećavajućim rezultatima. Dakako, prije šire upotrebe potrebno je provesti testiranja u ostalim endemskim područjima i ispitati pouzdanost u HIV-VL koinficiranih (52). Uz navedeno još se koriste i test direktne aglutinacije, indirektna fluorescence i ELISA. Osobita prednost indirektna fluorescence je raspoznavanje između izlječenja i relapsa bolesti, no ograničava ga varijabilna osjetljivost i specifičnost (53).

## 7.3 Molekularna dijagnostika

Dijelovi svijeta s odgovarajućim pristupom laboratorijskim centrima i suvremenim tehnologijama za potvrdu dijagnoze koriste PCR metode (21). Na tržištu postoji raznolik spektar PCR metoda poput qPCR za utvrđivanje količine parazita i susljedno tome težine bolesti ili nested PCR koji je pokazao obećavajuće rezultate u detekciji parazitemije niskog stupnja. Osjetljivost, iako visoka, ovisi o porijeklu uzorka (krv, koštana srž, slezena), no velika je prednost mogućnost postavljanja dijagnoze iz neinvazivno uzetih uzoraka kao što je bris bukalne sluznice ili urin. Nažalost, visoka cijena opreme, potreba

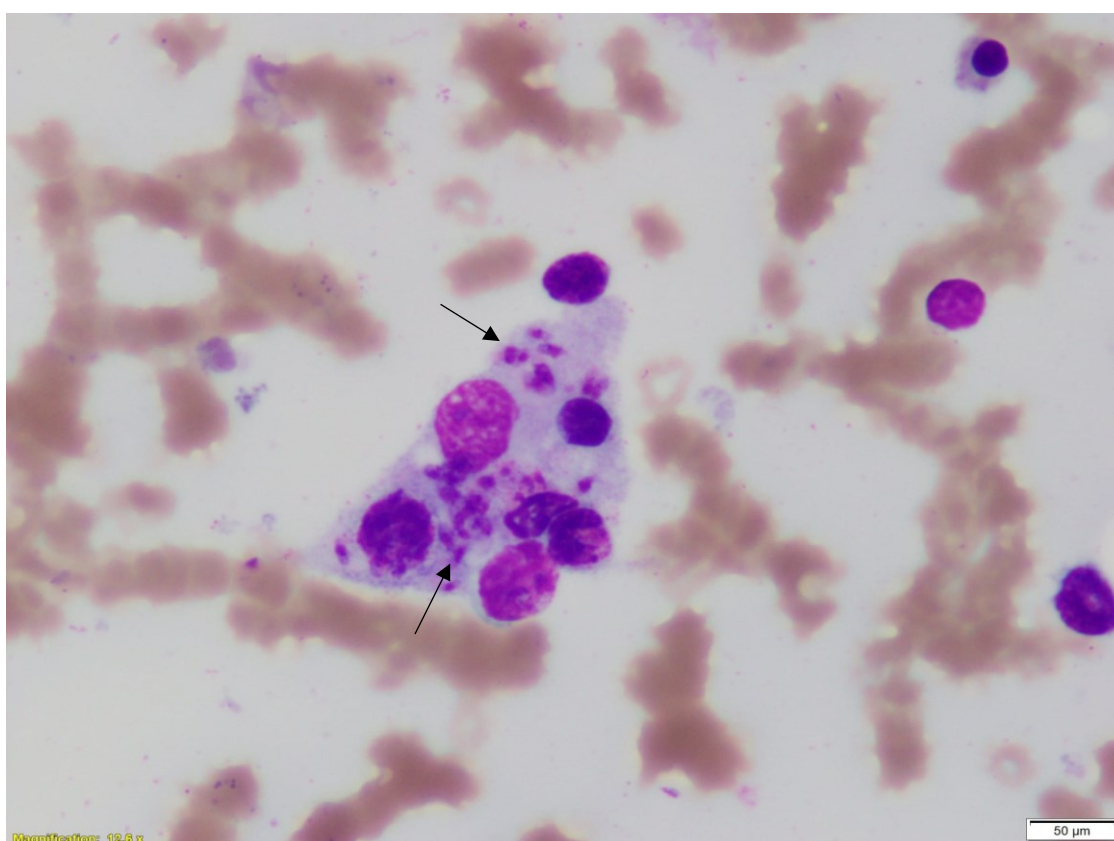
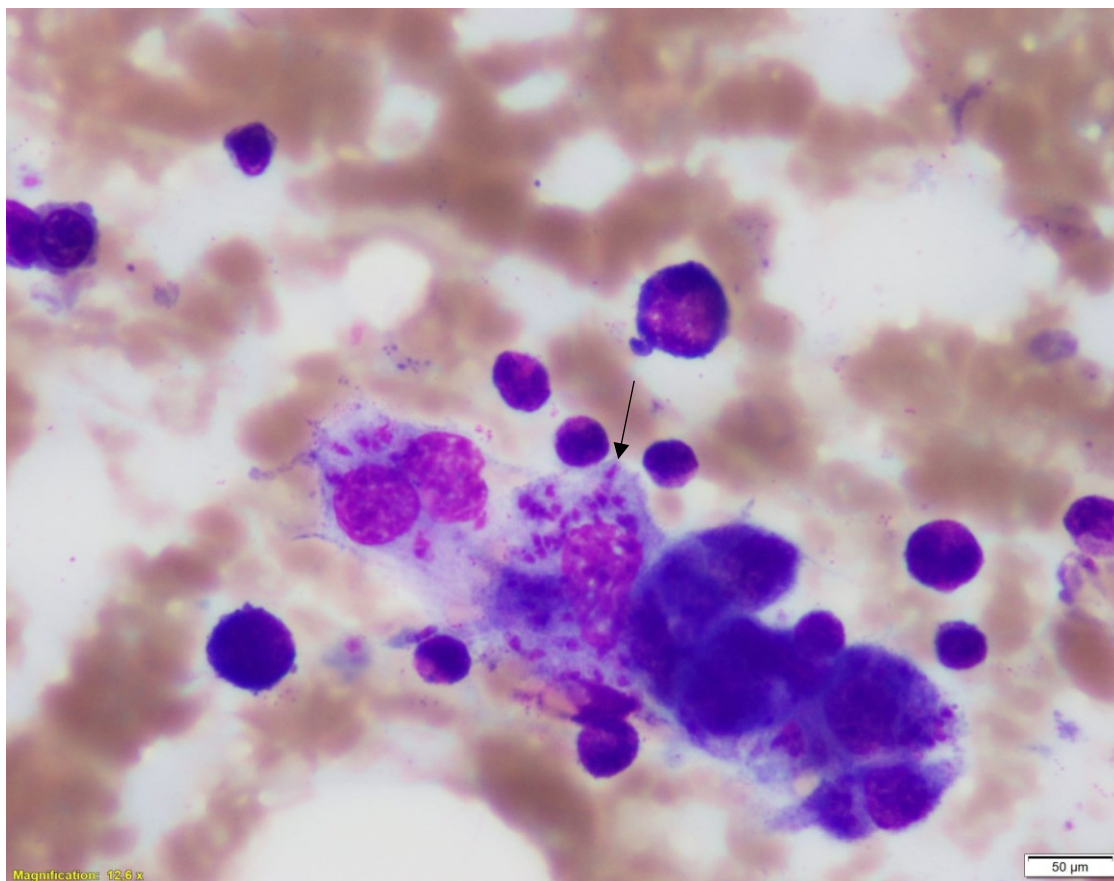
za naprednom tehnologijom i nemogućnost izvođenja u manjim centrima čini ju nedostupnom zemljama gdje je najpotrebnija (53,54).

Od navedenih metoda u razvijenim dijelovima svijeta najviše se koristi PCR i uz njega mikroskopski dokaz uzročnika. Nasuprot tome, endemska područja koja najviše doprinose globalnoj prevalenciji sklonija su serološkim testovima i brzim metodama uslijed manjka resursa. Unatoč svim dosadašnjim uspjesima na ovome području, nužan je razvitak učinkovitog, jeftinog i lako primjenjivog testa koji će biti dostupan svima jer se jedino tako mogu ostvariti napori uloženi u eradikaciju ove bolesti (53).

#### **7.4 Dijagnoza HIV-VL koinfekcije**

Poseban je problem postavljanje dijagnoze u HIV pacijenata jer je klinička slika često atipična, usto je promijenjen i imunološki odgovor. Slijedom toga, dokazivanje protutijela u serumu ovdje nije metoda izbora (50). S druge strane, postoji velik broj parazita u koštanoj srži iz čega proizlazi veća osjetljivost nalaza *Leishmania* mikroskopijom naspram zabilježene u imunokompetentnih pojedinaca, ali ponekad se amastigoti ne nalaze jer su skriveni na neobičnim mjestima poput pluća, kolona, želuca (34). Uz vizualizaciju parazita mikroskopom i molekularne metode temeljene na PCR-u pokazale su se efikasnim zahvaljujući visokoj osjetljivosti koja raste padom broja CD4<sup>+</sup> limfocita. Prednost nad mikroskopijom je postavljanje dijagnoze pri neobičnim kliničkim prezentacijama, mogućnost određivanja opterećenja sustava parazitom i težine bolesti putem kvantitativnih metoda te vrstu lišmenije. Potonje je osobito značajno za razlučivanje reinfekcije, odnosno relapsa u izliječenih te bolje razumijevanje nastanka različitih oblika PKDL (54,55).

U imunosuprimiranih, nakon primjerice transplantacije, serološki testovi nisu pokazali pad osjetljivosti kao u slučaju infekcije HIV-om. No, molekularne metode i tu su se pokazale nadmoćnije zbog sposobnosti praćenja odgovora na terapiju i identificiranja eventualnog relapsa (56).



**Slika 4.** Punktat koštane srži s vidljivim amastigotima. Iz arhivskog materijala Laboratorija za citologiju, Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“

## 8. LIJEČENJE

Bolest je smrtonosna u više od 90% slučajeva ukoliko se ne liječi, slijedom toga farmakološka terapija je nužna u svih simptomatskih pacijenata s dijagnozom VL. Primjena liposomalnog amfotericina B, miltefosina, pentavalentnih antimonijalnih lijekova i paromomicina pokazala se najučinkovitijom u eliminaciji bolesti (57).

### 8.1 Liposomalni amfotericin B (L-AMB)

Amfotericin B u kombinaciji s kolesterolom i ostalim fosfolipidima unutar liposoma kompetentan je za vezanje na membranu parazita i narušavanje njene funkcije stvaranjem pora i ionskog disbalansa. Ovakva formulacija lijeka vrlo je djelotvorna uz minimalnu toksičnost (prolazno povišenje kreatinina). Ukoliko dođe do izlaganja temperaturama  $>25^{\circ}\text{C}$  ili  $<0^{\circ}\text{C}$ , utoliko se mijenjaju se svojstva liposoma i raste toksičnost i/ili smanjuje učinkovitost (58). Za imunokompetentne osobe kojima je dokazana VL ovo je lijek izbora, a režimi doziranja razlikuju se po regijama. Terapijska doza od 3 mg/kg/dan u intravenskim infuzijama 1.-5. dana, zatim 14. i 21. dan standardna je praksa u Južnoj Aziji, dočim se u Europi i Americi implementira ista doza kontinuirano 7 dana. Istočna je Afrika izuzetak gdje se kao prva linija primjenjuje natrijev stiboglukonat zajedno s paromomicinom (57,59).

### 8.2 Antimonijalni lijekovi i paromomicin

Lijekovi bazirani na antimonu kao što je to natrijev stiboglukonat dovode do brojnih nuspojava (mučnina, povraćanje, artralgiya, srčane aritmije, pankreatitis). Unatoč tome, primjenjivani su dugi niz godina, osobito na području Afrike, kao lijek izbora. Devedesetih je godina prijavljena pojava rezistencije u Indiji što je ponukalo istraživače na traženje alternativa kako bi preduhitriili pojavu rezistencije širih razmjera (60).

Budući da je 2010. prema smjernica SZO kombinacija paromomicina i natrijeva stiboglukonata preporučena kao prva linija u liječenju visceralne lišmanioze stanovnika s teritorija Istočne Afrike, na uzorku od 3126 ispitanika analizirana su njihova farmakološka svojstva. Ishod je bio povoljan s utvrđenom sigurnošću i efikasnošću, od nuspojava najfrekventniji je bio bol na mjestu uboda uz oteklinu, temperatura, povraćanje i abdominalna nelagoda (61). Ova kombinacija za spomenuto je područje ostala u smjernicama kao prvi izbor u liječenju i danas, a sastoji se od 20 mg/kg natrijeva



stiboglukonata intravenski ili intramuskularno + 15 mg/kg paromomicina intramuskularno kroz 17 dana (57).

### 8.3 Miltefosin

Jedini lijek registriran za oralnu primjenu je miltefosin. Srodan je fosfatidilkolinu, a učinak postiže modifikacijom signalnih puteva stanice (62). Najčešće nuspojave očituju se na gastrointestinalnom sustavu i obično su samolimitirajuće. Najveća je opasnost njegov teratogeni potencijal, stoga se trudnoća za vrijeme primjene i minimalno 2 mjeseca nakon prestanka terapije, treba izbjegavati. Ovo predstavlja izazov za zemlje u razvoju jer kontracepcija nije univerzalno dostupna (63). Nasuprot početnim očekivanjima došlo je do relativno brzog razvoja rezistencije i pada učinkovitosti što se pripisuje slaboj adherenciji na dugotrajan režim liječenja (64).

Sve je to, uz visoku cijenu lijeka, umanjilo predmnijevanu ulogu miltefosina u borbi protiv *Leishmania* spp. te se danas uglavnom koristi kao druga linija u liječenju ili u kombinaciji s lijekovima prve linije (57).

Proteomika i genomika predstavljaju budućnost u otkrivanju novih lijekova, a osnovica za to je razumijevanje interakcije domaćin-parazit i pronalazak novih ciljnih puteva djelovanja (65).

Porast IFN- $\gamma$  i IL-12 uz popratan pad IL-10 i TGF- $\beta$  indikatori su uspješno provedene terapije i izliječenja bolesti (1).

### 8.4 Primjena terapije u HIV-VL koinfekciji

Posebno su razvijene smjernice za osobe s konkomitantnom HIV infekcijom. Za prostor Istočne Afrike preporuča se L-AMB (5 mg/kg na dan 1, 3, 5, 7, 9, 11 od započetog liječenja) + miltefosin (100 mg/dan kroz 28 dana). Jugoistočnoj Aziji preporučene su slične smjernice s razlikom u miltefosinu koji se primjenjuje samo 14 dana. U obje je regije kombinacija lijekova superiornija monoterapiji L-AMB koju valja koristiti ukoliko miltefosin nije dostupan (33). Međutim, za Europu te Sjevernu i Južnu Ameriku monoterapija L-AMB 40 mg/kg raspodijeljeno u 8 jednakih doza u periodu od 24 dana prvi je izbor u liječenju. Tendencija je administriranje farmaceutika u bolničkom okruženju kako bi se nadzirao odgovor i eventualne nuspojave. Naravno, ključno je i

uvođenje antiretroviralne terapije što ovisi o stanju pacijenata i njihovoj toleranciji na lijekove (57).

U želji za smanjenjem relapsa u HIV-VL koinficiranih primjenjuje se sekundarna profilaksa, osobito u osoba s brojem CD4 limfocita  $<200/\mu\text{L}$ . Preporučuje se pentamidin izotionat 4 mg/kg (300 mg za odrasle) svaka 3 do 4 tjedna na području Istočne Afrike, a liposomalni amfotericin B 3-5 mg/kg/dan u istom vremenskom razmaka za teritorij Jugoistočne Azije, Europe, Sjeverne i Južne Amerike. Provođenje terapije prestaje kada se zadovolji jedan od sljedećih uvjeta: broj CD4 limfocita  $>350/\mu\text{L}$  ili nedetektibilna viremija u trajanju od najmanje 6 mjeseci uz odsutnost znakova VL relapsa (33,57).

## 9. PREVENCIJA

Svjetska zdravstvena organizacija svrstala je lišmaniozu u NTD (eng. *Neglected tropical diseases*). Zajednički čimbenici svih stanja koja spadaju pod navedeni akronim su pojavnost u regijama gdje vlada neimaština i nedostatak resursa iz čega proizlazi manjak interesa farmaceutskih kompanija za razvitak novih lijekova i nedostupnost adekvatne zdravstvene zaštite. Posljedično, ulažu se veliki napor da bi došlo do eradikacije u endemskim zemljama (1).

### 9.1 Program eliminacije na Indijskom potkontinentu

Indija, Nepal i Bangladeš su 2005. godine donijeli regionalnu inicijativu za eliminaciju VL do 2015. godine. Projekt se produžio sve do danas sa zapanjujućim rezultatima i padom od preko 90% u prijavljenim slučajevima u svim državama u odnosu na početne godine projekta. Dodatno, Bangladeš je postao prva zemlja u svijetu koja je eliminirala visceralnu lišmaniozu kao javnozdravstveni problem s manje od 1 na 10 000 prijavljenih slučajeva u svakom podokrugu 3 godine zaredom (66,67). Uspjeh su polučile mjere ranog postavljanja dijagnoze i kompletne primjene terapije, kontrola nad vektorom, aktivan nadzor nad bolešću, partnerstvo i socijalan kontakt s organizacijama udruženo s provođenjem operativnog istraživanja.

**Tablica 2.** Pregled specifičnih mjera koje su dovele do smanjenja prevalencije VL na primjeru Nepala, prema istraživanju Joshi i sur. (67)

<b>Specifična mjera</b>	<b>Rezultat</b>
<b>Primjena insekticida unutar kuća Mreže impregnirane insekticidom</b>	Kontrola vektora
<b>Uvođenje rK39 brzog dijagnostičkog testa</b>	Rano postavljanje dijagnoze zbog jednostavnosti primjene
<b>Uvođenje miltefosina, zatim L-AMB</b>	Aдекватna terapija i sprječavanje relapsa
<b>Uključivanje lokalnog stanovništva u program kontrole VL</b>	Aktivan nadzor bolesti

Ovaj je eliminacijski program primjer dobre prakse te bi mogao poslužiti kao model za eliminaciju VL u Africi i drugim zemljama. Odgovarajuća zdravstvena politika, suradnja državnih tijela s vanjskim suradnicima i organizacijama uz pruženu financijsku pomoć pri opskrbi lijekovima put je prema napretku u borbi sa zanemarenim tropskim bolestima (66,67).

## **9.2 Intervencije usmjerene rezervoarima infekcije**

Imajući na umu da je *Leishmania* globalno rasprostranjena zoonoza, razne su mjere usmjerene k životinjskom svijetu ne bi li se zaustavila transmisija i pomogla eradikacija. Među najučinkovitije spada nošenje ogrlica impregniranih insekticidom u pasa koji su važan izvor infekcije u mnogim dijelovima svijeta. Učinak ogrlica je dvojan. Drugim riječima, dolazi do pada u broju zaraženih mušica jer velik broj uginje nakon kontakta s psom, a istovremeno djeluje i kao repelent i smanjuje ukupan broj ugriza. Ukoliko se želi postići značajnije smanjenje prevalencije u ljudi potrebno je zahvatiti većinu pasa ovom mjerom (i seronegativne i pozitivne) (68).

## 9.3 Cjepivo

Cijepljenje je još jedna perspektivna strategija u kontroli pseće lišmanioze. Iako je cjepivo dostupno i u Hrvatskoj, visoka cijena predstavlja prepreku u kontekstu relevantnih metoda prevencije. U potrebi za kontrolom zaraze postojale su ideje i o eutanaziji. No, to je ostala kontroverzna tematika i nije se pokazala opravdanom jer se bolesni psi ubrzo zamijene novima. Nadalje, moglo bi doći do češćeg hranjenja mušica na ljudima (2).

### 9.3.1 Cijepljenje u ljudi

Unatoč postojanju efikasnog cjepiva za pse, na razvoj podjednako uspješnog i sigurnog za primjenu u ljudi još se čeka. Velika raznolikost u vrsti *Leishmania* na što se nadovezuje složen imunološki odgovor čini čitav postupak izazovnim. Prva generacija cjepiva sastojala se od čitavih mrtvih parazita i premda je dolazilo do razvoja imuniteta, on bi padao s vremenom što iziskuje multiple aplikacije. Druga se generacija bazirala na rekombinantnoj tehnologiji i uključivala je brojne antigene parazita. Rezultat je bio parcijalna protekcija. Konačno, treća generacija zasniva se na injektiranu „gole“ DNA plazmida ili inkapsulirane unutar viralnog vektora. Ovdje se postavlja pitanje sigurnosti i potencijalne štetnosti uslijed implementiranja nukleinske kiseline u ljudski genom (69,70). Trenutno se odvijaju klinička ispitivanja na nekoliko kandidata za buduće cjepivo. Obećavajućim se pokazuje tehnologija genetički modificiranog, avirulentnog živog cjepiva. Primjerice, delecija centrin 1 gena potrebnog za diferencijaciju promastigota u amastigota i susljedan rast (69).

## 10. ZAKLJUČAK

Postignuti su značajni pomaci u kontroli ove bolesti što najbolje dočarava uspješno provedena inicijativa Indije, Bangladeša i Nepala. Usprkos tome, rastući problemi u svijetu poput klimatskih promjene i migracija, siromaštva, prenapučenosti i loših higijenskih uvjeta doprinose održavanju vektora i uzročnika. Nužno je provesti još brojne korake na putu prema eliminaciji visceralne lišmanioze u endemskim zemljama.

Na teritoriju Republike Hrvatske dominira stagnacija u broju prijavljenih slučajeva posljednjih godina, ali uzimajući u obzir mijenu demografske slike proteklih godina, ne smije se zanemariti kao važna diferencijalna dijagnoza u putnika ili stranih državljana s endemskog područja.

## 11. ZAHVALE

Zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Nevenu Papiću na izdvojenom vremenu i pomoći pri odabiru teme i pisanju diplomskog rada.

Također, hvala svim prijateljima i obitelji na pruženoj podršci kroz sve godine moga obrazovanja. Posebno mami Marijani koja je uvijek znala što treba reći, ali i kako slušati moje neiscrpne monologe s kulminacijom u periodu ljetnih rokova. Hvala i seki Dori na vječnoj spremnosti gledanja sitcoma u pauzama od učenja.

Mojim prijateljima iz grupe na odličnim partyjima nakon riješenih ispita, curama s košarke na najzabavnijim „team buildinzima“, mojoj cimi što mi je uljepšala posljednju godinu studiranja i domskog života i nakraju, hvala Krpi što je voljno ponovno proživio studiranje na MEF-u kroz moje opsežne polemike i lepezu doživljaja.

## 12. LITERATURA

1. WHO Expert Committee on the Control of the Leishmaniases, World Health Organization. Control of the leishmaniases: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2010. [pristupljeno 29. travanj 2024.]. Dostupno na: <https://iris.who.int/handle/10665/44412>
2. Živičnjak T. Lišmanioza u ljudi i pasa u Hrvatskoj - Da li je vrijeme za paniku? [Internet]. Veterina portal. 2018. [pristupljeno 24. svibanj 2024.]. Dostupno na: <https://veterina.com.hr/?p=68172#Summary>
3. Lukas D. Leishmania species. U: Begovac J i sur., ur. Klinička infektologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2019. str. 894–905.
4. Sunter J, Gull K. Shape, form, function and Leishmania pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. Open Biol. 2017.;7(9):170165. doi: 10.1098/rsob.170165
5. World Health Organization. [Internet]. Geneva: World Health Organization; c2024. Leishmaniasis; 2023. [pristupljeno 24. travnja 2024.]. Dostupno na: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
6. Kyari S. Epidemiology of Leishmaniasis. U: Almeida-Souza F, De Oliveira Cardoso F, Lucia Abreu-Silva A, Da Silva Calabrese K, ur. Leishmania Parasites - Epidemiology, Immunopathology and Hosts [Internet]. IntechOpen; 2024. [pristupljeno 23. svibnja 2024.]. Dostupno na: <https://www.intechopen.com/chapters/87396>
7. Harhay MO, Olliaro PL, Vaillant M, Chappuis F, Lima MA, Ritmeijer K, i sur. Who Is a Typical Patient with Visceral Leishmaniasis? Characterizing the Demographic and Nutritional Profile of Patients in Brazil, East Africa, and South Asia. Am J Trop Med Hyg. 2011.;84(4):543–50. doi: 10.4269/ajtmh.2011.10-0321
8. Vaselek S. Systematic Review: Re-emergence of human leishmaniasis in the Balkans. Trop Med Int Health. 2021.;26(10):1189–99. doi: 10.1111/tmi.13653

9. Punda-Polić V, Sardelić S, Bradarić N. Visceral leishmaniasis in southern Croatia. *The Lancet*. 1998.;351(9097):188. doi: 10.1016/S0140-6736(05)78208-8
10. Mulić R, Ćustović A, Ropac D, Tripković I, Stojanović D, Klišmanić Z. Occurrence of Visceral and Cutaneous Leishmaniasis in Croatia. *Mil Med*. 2009.;174(2):206–11. doi: 10.7205/MILMED-D-58-5608
11. Šiško-Kraljević K, Jerončić A, Mohar B, Punda-Polić V. Asymptomatic *Leishmania infantum* infections in humans living in endemic and non-endemic areas of Croatia, 2007 to 2009. *Eurosurveillance*. 2013.;18(29):20533. doi: 10.2807/1560-7917.ES2013.18.28.20533
12. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2022. godinu - tablični podatci. [Internet]. Stevanović R, Capak K, Benjak T, ur. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2023. [pristupljeno 23. svibnja 2024.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/periodicne-publikacije/hrvatski-zdravstveno-statisticki-ljetopis-za-2022-g-tablicni-podaci/>
13. Kolářová I, Valigurová A. Hide-and-Seek: A Game Played between Parasitic Protists and Their Hosts. *Microorganisms*. 2021.;9(12):2434. doi: 10.3390/microorganisms9122434
14. Bosnić S, Gradoni L, Khoury C, Maroli M. A review of leishmaniasis in Dalmatia (Croatia) and results from recent surveys on phlebotomine sandflies in three southern counties. *Acta Trop*. 2006.;99(1):42–9. doi: 10.1016/j.actatropica.2006.06.009
15. Samant M, Sahu U, Pandey SC, Khare P. Role of Cytokines in Experimental and Human Visceral Leishmaniasis. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2021. [pristupljeno 24. travnja 2024.];11. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2021.624009>
16. Gautam S, Kumar R, Singh N, Singh AK, Rai M, Sacks D, i sur. CD8 T Cell Exhaustion in Human Visceral Leishmaniasis. *J Infect Dis*. 2014.;209(2):290–9. doi: 10.1093/infdis/jit401
17. Bhor R, Rafati S, Pai K. Cytokine saga in visceral leishmaniasis. *Cytokine*. 2021.;147:155322. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155322



18. Pitta MGR, Romano A, Cabantous S, Henri S, Hammad A, Kouriba B, i sur. IL-17 and IL-22 are associated with protection against human kala azar caused by *Leishmania donovani*. *J Clin Invest*. 2009.;119(8):2379–87. doi: 10.1172/JCI38813
19. Wamai RG, Kahn J, McGloin J, Ziaggi G. Visceral leishmaniasis: a global overview. *J Glob Health Sci*. 2020.;2(1):e3. doi: 10.35500/jghs.2020.2.e3
20. Costa CHN, Chang KP, Costa DL, Cunha FVM. From Infection to Death: An Overview of the Pathogenesis of Visceral Leishmaniasis. *Pathogens*. 24. srpnja 2023.;12(7):969. doi: 10.3390/pathogens12070969
21. Bern C. Visceral leishmaniasis: Clinical manifestations and diagnosis [ažurirano 15.4.2024.; pristupljeno 28.5.2024.] U: Weller PF, ur. UpToDate [Internet]. Waltham (MA): UpToDate; c2024. Dostupno na: [https://www.uptodate.com/contents/visceral-leishmaniasis-clinical-manifestations-and-diagnosis?search=epidemiology%20visceral%20leishmaniosis&source=search\\_result&selectedTitle=2%7E92&usage\\_type=default&display\\_rank=2](https://www.uptodate.com/contents/visceral-leishmaniasis-clinical-manifestations-and-diagnosis?search=epidemiology%20visceral%20leishmaniosis&source=search_result&selectedTitle=2%7E92&usage_type=default&display_rank=2)
22. Kumar A. Pigmentation in Leishmaniasis: Common or Different. *J Pigment Disord*. 2015.;02(05). doi: 10.4172/2376-0427.1000180
23. van Griensven J, Diro E. Visceral Leishmaniasis. *Infect Dis Clin North Am*. 2012.;26(2):309–22. doi: 10.1016/j.idc.2012.03.005
24. Scarpini S, Dondi A, Totaro C, Biagi C, Melchionda F, Zama D, i sur. Visceral Leishmaniasis: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment Regimens in Different Geographical Areas with a Focus on Pediatrics. *Microorganisms*. 2022.;10(10):1887. doi: 10.3390/microorganisms10101887
25. de Carvalho FHG, Lula JF, Teles L de F, Caldeira AP, de Carvalho SFG. Hemophagocytic lymphohistiocytosis secondary to visceral leishmaniasis in an endemic area in the north of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020.;53:e20190491. doi: 10.1590/0037-8682-0491-2019
26. Neycheva S, Oparanov B, Kamburova A, Karalilova R, Stoeva V. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Triggered by Leishmaniasis: A Case Report and Literature Review. *Am J Case Rep*. 2021.;22:e933012-1-e933012-6. doi: 10.12659/AJCR.933012

27. Chattopadhyay A, Mittal S, Gupta K, Dhir V, Jain S. Intestinal leishmaniasis. *Clin Microbiol Infect.* 2020.;26(10):1345–6. doi: 10.1016/j.cmi.2020.05.003
28. da Silva Junior GB, Guardão Barros EJ, De Francesco Daher E. Kidney involvement in leishmaniasis—a review. *Braz J Infect Dis.* 2014.;18(4):434–40. doi: 10.1016/j.bjid.2013.11.013
29. Asfaw KG, Gizaw ST, Gnanasekaran N. Evaluation of Renal Function Profile in Human Visceral Leishmaniasis (Kala-Azar) Patients: A Case of Western Tigray, Ethiopia. *Res Rep Trop Med.* 2023.;14:21–33. doi: 10.2147/RRTM.S410137
30. Dutra M, Martinelli R, de Carvalho EM, Rodrigues LE, Brito E, Rocha H. Renal involvement in visceral leishmaniasis. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 1985.;6(1):22–7. doi: 10.1016/s0272-6386(85)80034-2
31. Abongomera C, van Henten S, Vogt F, Buyze J, Verdonck K, van Griensven J. Prognostic factors for mortality among patients with visceral leishmaniasis in East Africa: Systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020.;14(5):e0008319. doi: 10.1371/journal.pntd.0008319
32. da Silva TAM, Morais MHF, Lopes HM de OR, Gonçalves SA, Magalhães F do C, Amâncio FF, i ostali. Prognostic factors associated with death from visceral leishmaniasis: a case-control study in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2020.;114(5):346–54. doi: 10.1093/trstmh/traa010
33. WHO guideline for the treatment of visceral leishmaniasis in HIV co-infected patients in East Africa and South-East Asia [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2022. [pristupljeno 30. svibnja 2024.]. Dostupno na: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240048294>
34. Sousa-Gomes ML de, Romero GAS, Werneck GL. Visceral leishmaniasis and HIV/AIDS in Brazil: Are we aware enough? *PLoS Negl Trop Dis.* 2017.;11(9):e0005772. doi: 10.1371/journal.pntd.0005772
35. Kaur R, Kumar R, Chaudhary V, Devi V, Dhir D, Kumari S, i ostali. Prevalence of HIV infection among visceral leishmaniasis patients in India: A systematic review and meta-analysis. *Clin Epidemiol Glob Health.* 2024.;25:101504. doi: 10.1016/j.cegh.2023.101504

36. Vallejo A, Abad-Fernández M, Moreno S, Moreno A, Pérez-Elías MJ, Dronda F, i ostali. High levels of CD4+ CTLA-4+ Treg cells and CCR5 density in HIV-1-infected patients with visceral leishmaniasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015.;34(2):267–75. doi: 10.1007/s10096-014-2229-1
37. Horrillo L, Castro A, Matía B, Molina L, García-Martínez J, Jaqueti J, i sur. Clinical aspects of visceral leishmaniasis caused by *L. infantum* in adults. Ten years of experience of the largest outbreak in Europe: what have we learned? *Parasit Vectors*. 2019.;12(1):359. doi: 10.1186/s13071-019-3628-z
38. Hurissa Z, Gebre-Silassie S, Hailu W, Tefera T, Lalloo DG, Cuevas LE, i sur. Clinical characteristics and treatment outcome of patients with visceral leishmaniasis and HIV co-infection in northwest Ethiopia. *Trop Med Int Health*. 2010.;15(7):848–55. doi: 10.1111/j.1365-3156.2010.02550.x
39. Lindoso JAL, Cunha MA, Queiroz IT, Moreira CHV. Leishmaniasis-HIV coinfection: current challenges. *HIVAIDS Auckl NZ*. 2016.;8:147–56. doi: 10.2147/HIV.S93789
40. Lindoso JAL, Moreira CHV, Cunha MA, Queiroz IT. Visceral leishmaniasis and HIV coinfection: current perspectives. *HIVAIDS Auckl NZ*. 2018.;10:193–201. doi: 10.2147/HIV.S143929
41. Brahmachari UN. A New Form of Cutaneous Leishmaniasis—Dermal Leishmanoid. *Indian Med Gaz*. 1922.;57(4):125–7.
42. Das Gupta BM. A Note on the Parasite of „Dermal Leishmanoid“. *Indian Med Gaz*. 1927.;62(1):11–2.
43. Ghosh P, Roy P, Chaudhuri SJ, Das NK. Epidemiology of Post-Kala-azar Dermal Leishmaniasis. *Indian J Dermatol*. 2021.;66(1):12. doi: 10.4103/ijd.IJD\_651\_20
44. Mukhopadhyay D, Dalton JE, Kaye PM, Chatterjee M. Post kala-azar dermal leishmaniasis: an unresolved mystery. *Trends Parasitol*. 2014.;30(2):65–74. doi: 10.1016/j.pt.2013.12.004
45. Gedda MR, Singh B, Kumar D, Singh AK, Madhukar P, Upadhyay S, i ostali. Post kala-azar dermal leishmaniasis: A threat to elimination program. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020.;14(7):e0008221. doi: 10.1371/journal.pntd.0008221

46. Kumar P, Chatterjee M, Das NK. Post Kala-Azar Dermal Leishmaniasis: Clinical Features and Differential Diagnosis. *Indian J Dermatol.* 2021.;66(1):24–33. doi: 10.4103/ijd.IJD\_602\_20
47. Singh-Phulgenda S, Kumar R, Dahal P, Munir A, Rashan S, Chhajer R, i sur. Post-kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL) drug efficacy study landscape: A systematic scoping review of clinical trials and observational studies to assess the feasibility of establishing an individual participant-level data (IPD) platform. *PLoS Negl Trop Dis.* 2024.;18(4):e0011635. doi: 10.1371/journal.pntd.0011635
48. Pagliano P, Carannante N, Rossi M, Gramiccia M, Gradoni L, Faella FS, i sur. Visceral leishmaniasis in pregnancy: a case series and a systematic review of the literature. *J Antimicrob Chemother.* 2005.;55(2):229–33. doi: 10.1093/jac/dkh538
49. Figueiró-Filho EA, Duarte G, El-Beitune P, Quintana SM, Maia TL. Visceral Leishmaniasis (Kala-Azar) and Pregnancy. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2004.;12(1):31–40. doi: 10.1080/1064744042000210384
50. Sundar S, Rai M. Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002.;9(5):951–8. doi: 10.1128/CDLI.9.5.951-958.2002
51. Srivastava P, Dayama A, Mehrotra S, Sundar S. Diagnosis of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2011.;105(1):1–6. doi: 10.1016/j.trstmh.2010.09.006
52. Humbert MV, Costa LE, Katis I, Fonseca Ramos F, Sánchez Machado A, Sones C, i sur. A rapid diagnostic test for human Visceral Leishmaniasis using novel *Leishmania* antigens in a Laser Direct-Write Lateral Flow Device. *Emerg Microbes Infect.* 2019.; 8(1):1178–85. doi: 10.1080/22221751.2019.1635430
53. Reimão JQ, Coser EM, Lee MR, Coelho AC. Laboratory Diagnosis of Cutaneous and Visceral Leishmaniasis: Current and Future Methods. *Microorganisms.* 2020.;8(11):1632. doi: 10.3390/microorganisms8111632
54. Sundar S, Singh OP. Molecular Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Mol Diagn Ther.* 2018.;22(4):443–57. doi: 10.1007/s40291-018-0343-y
55. Cruz I, Cañavate C, Rubio JM, Morales MA, Chicharro C, Laguna F, i sur. A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum*

- infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002.;96(Supplement\_1):S185–9. doi: 10.1016/S0035-9203(02)90074-X
56. Griensven J van, Diro E. Visceral Leishmaniasis: Recent Advances in Diagnostics and Treatment Regimens. *Infect Dis Clin.* 2019.;33(1):79–99. doi: 10.1016/j.idc.2018.10.005
57. Bern C. Visceral leishmaniasis: Treatment [ažurirano 15.4.2024.; pristupljeno 3.6.2024]. U: Weller PF, ur. *UpToDate* [Internet]. Waltham (MA): UpToDate; c2024 Dostupno na: [https://www.uptodate.com/contents/visceral-leishmaniasis-treatment?search=treatment%20of%20visceral%20leishmaniasis&source=search\\_result&selectedTitle=1%7E92&usage\\_type=default&display\\_rank=1#](https://www.uptodate.com/contents/visceral-leishmaniasis-treatment?search=treatment%20of%20visceral%20leishmaniasis&source=search_result&selectedTitle=1%7E92&usage_type=default&display_rank=1#)
58. Saravolatz LD, Bern C, Adler-Moore J, Berenguer J, Boelaert M, den Boer M, i sur. Liposomal Amphotericin B for the Treatment of Visceral Leishmaniasis. *Clin Infect Dis.* 2006.;43(7):917–24. doi: 10.1086/507530
59. Aronson N, Herwaldt BL. Diagnosis and Treatment of Leishmaniasis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene (ASTMH) [Internet]. Oxford University Press; 2016. [pristupljeno 03. lipnja 2024.]. Dostupno na: <https://academic.oup.com/cid/article/63/12/e202/2645609?login=false>
60. Moore EM, Lockwood DN. Treatment of Visceral Leishmaniasis. *J Glob Infect Dis.* 2010.;2(2):151. doi: 10.4103/0974-777X.62883
61. Kimutai R, Musa AM, Njoroge S, Omollo R, Alves F, Hailu A, i sur. Safety and Effectiveness of Sodium Stibogluconate and Paromomycin Combination for the Treatment of Visceral Leishmaniasis in Eastern Africa: Results from a Pharmacovigilance Programme. *Clin Drug Investig.* 2017.;37(3):259–72. doi: 10.1007/s40261-016-0481-0
62. Jha TK, Sundar S, Thakur CP, Bachmann P, Karbwang J, Fischer C, i sur. Miltefosine, an Oral Agent, for the Treatment of Indian Visceral Leishmaniasis. *N Engl J Med.* 1999.;341(24):1795–800. doi: 10.1056/NEJM199912093412403
63. Sundar S, Olliaro PL. Miltefosine in the treatment of leishmaniasis: Clinical evidence for informed clinical risk management. *Ther Clin Risk Manag.* 2007.;3(5):733–40.

64. Monge-Maillo B, López-Vélez R. Miltefosine for Visceral and Cutaneous Leishmaniasis: Drug Characteristics and Evidence-Based Treatment Recommendations. *Clin Infect Dis*. 2015.;60(9):1398–404. doi: 10.1093/cid/civ004
65. Rabaan AA, Bakhrebah MA, Mohapatra RK, Farahat RA, Dhawan M, Alwarthan S, i sur. Omics Approaches in Drug Development against Leishmaniasis: Current Scenario and Future Prospects. *Pathogens*. 2023.;12(1):39. doi: 10.3390/pathogens12010039
66. World Health Organization [Internet]. Geneva: World Health Organization; c2024. Bangladesh achieves historic milestone by eliminating kala-azar as a public health problem; 2023. [pristupljeno 04. lipnja 2024.]. Dostupno na: <https://www.who.int/news/item/31-10-2023-bangladesh-achieves-historic-milestone-by-eliminating-kala-azar-as-a-public-health-problem>
67. Joshi AB, Banjara MR, Chuke S, Kroeger A, Jain S, Aseffa A, i sur. Assessment of the impact of implementation research on the Visceral Leishmaniasis (VL) elimination efforts in Nepal. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023.;17(11):e0011714. doi: 10.1371/journal.pntd.0011714
68. Sev AP, Ovallos FG, Amaku M, Carrillo E, Moreno J, Galati EAB, i sur. Canine-Based Strategies for Prevention and Control of Visceral Leishmaniasis in Brazil. *PLOS ONE*. 2016.;11(7):e0160058. doi: 10.1371/journal.pone.0160058
69. Volpedo G, Bhattacharya P, Gannavaram S, Pacheco-Fernandez T, Oljuskin T, Dey R, i sur. The History of Live Attenuated Centrin Gene-Deleted Leishmania Vaccine Candidates. *Pathogens*. 2022.;11(4):431. doi: 10.3390/pathogens11040431
70. Dinc R. Leishmania Vaccines: the Current Situation with Its Promising Aspect for the Future. *Korean J Parasitol*. 2022.;60(6):379–91. doi: 10.3347/kjp.2022.60.6.379

### 13. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 27.12.1999. u Koprivnici. Pohađala sam OŠ „Prof. Blaž Mađer“ u Novigradu Podravskom, a zatim Gimnaziju „Fran Galović“ u Koprivnici i u konačnici Medicinski fakultet u Zagrebu koji sam upisala 2018. godine.

Bavim se košarkom od osnovne škole te sam tijekom studija bila aktivan član košarkaške sekcije Medicinskog fakulteta, usto sam igrala za ŽKK „Podravac“, a na šestoj godini i ŽKK „Koprivnica“ u rangu Prve ženske lige. U dresu Podravca osvojila sam brojne naslove, između ostalog i prvenstvo Hrvatske mlađih kadetkinja 2012.godine, a igrala sam i Premijer ligu.

Sudjelovala sam s košarkaškom sekcijom Medicine na Humanijadi gdje smo osvojile zlato 2019.,2022. i 2023. godine. Na sveučilišnom natjecanju 2023. godine bile smo druge , a 2019. treće. Osim košarke, u osnovnoj i srednjoj školi bavila sam se dramskom umjetnošću i natjecala se na Lidranu u grupnim kategorijama izvođenjem predstava, ali i u samostalnim recitiranjem poezije. Premda već dulji period nisam u doticaju s ovim područjem, afinitet prema literarnom i dramskom stvaralaštvu prisutan je i dalje.