Farm Vestn 2013; 64: 189–264; UDK 615 CODEN FMVTA, SLO ISSN 0014-8229 avgust 2013, letnik 64

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 3

OSREDNJA TEMA:
ALZHEIMERJEVA BOLEZEN

STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE I PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA
Izdaja: SLOVENSKO FARMACEVTSKO DRUŠTVO, Dunajska 184 A, SI - 1000 Ljubljana

Pot do zdravja

Naš cilj so zdravi in srečni ljudje. Smo veledrogerija za prodajo zdravil z najširšo ponudbo izdelkov za humano in veterinarsko medicino v Sloveniji. Odlikujejo nas hitrost, varnost in zanesljivost. Svoje delo opravljamo srčno in predano. Prav zaradi tega nam zaupajo številne lekarne in bolnišnice ter druge zdravstvene in veterinarske ustanove.

Zavedamo se, da nam prihodnost ponuja nešteto izzivov. Premagamo jih lahko z nenehnim izpopolnjevanjem. S kakovostnimi storitvami in s široko izbiro zdravil ter drugih izdelkov bomo zaupanje svojih kupcev opravičevali tudi v prihodnje!

01 470 98 00 | www.kemofarmacija.si

KEMOFARMACIJA

STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE | PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA

FARMACEVTSKI VESTNIK

št. 3 | avgust 2013 | letnik 64

ODGOVORNI UREDNIK:
Borut Štrukelj

GLAVNA UREDNICA:
Petra Slanc Može

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

IZDAJATELJSKI SVET:
Miroslava Abazovič
Mitja Kos
Polonca Fiala
Katja Razinger
Sonja Rupret
Tanja Šegula
Anamarija Ziga

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

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

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM
Naklada: 3.400 izvodov

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

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

Struktura bolezni, ki grozijo sodobnemu človeku, se z leti spreminja. V prejšnjem stoletju je bila največja umrljivost posledica nalezljivih bolezni, sedaj sta na prvih dveh mestih v razvitem svetu rakava obolenja in srčnožilne bolezni. Za obe področji razvijamo nova zdravila, ki so selektivnejša in učinkovitejša. Glede na celokupne stroške zdravljenja pa se obema skupinama bolezni močno približuje Alzhemierjeva bolezen, ki postaja najdražja bolezen, saj je poleg bolnika v bolezen intenzivno vključena tudi bolnikova okolica. Žal pa trenutno še nimamo zdravila, ki bi zaustavila napredovanje Alzheimerjeve bolezni. S trenutno izbiro zdravil lahko le nekoliko upočasnimo napredovanje oziroma zmanjšamo simptomatiko. Prav Alzhemierjevi bolezni je posvečena osrednja tema te številke Farmacevtskega vestnika. Tako smo pripravili tri prispevke glede nastanka in razvoja bolezni, trenutnega zdravljenja, opisana so obetavneša zdravila v razvoju ter predstavljeno socialno in ekonomsko breme Alzheimerjeve bolezni.

V poglavju preglednih člankov se lahko seznanite o novih pristopih zdravljenja sladkorne bolezni tipa 2 in o zaviralcih ureaze. Klinični biokemiki so pripravili članek o teoretičnih osnovah dihalnih testov na temelju izotopa ogljika, kolega Bojan Madjar pa v okviru tem iz samozdravljenja opisuje načine ustavitve akutne driske pri otroku. V rubriki »Prebrali smo za vas« lahko najdete kratke povzetke obetavnih farmacevtskih raziskav ter zanimivosti iz sveta farmacije.

Želim vam prijetne poletne dopustniške dni ob prebiranju Farmacevtskega vesnika.

Prof.dr. Borut Štrukelj
Odgovorni urednik

VSEBINA / CONTENT

PREGLEDNI TEMATSKI ZNANSTVENI ČLANKI – THEMATIC REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

191 Andreja Emeršič, Zvezdan Pirtošek
Nastanek, razvoj in diagnostika Alzheimerjeve bolezni / *Etiopathogenesis and diagnostics of Alzheimer's disease*

202 Andreja Emeršič, Zvezdan Pirtošek, Mateja Štempelj, Borut Štrukelj
Zdravljenje Alzheimerjeve bolezni / *Treatment of Alzheimer's disease*

208 Zvezdan Pirtošek
Socialno in ekonomsko breme Alzheimerjeve bolezni / *Alzheimer's disease: social and economic burden*

PREGLEDNI ZNANSTVENI ČLANKI – REVIEW SCIENTIFIC ARTICLES

211 Matjaž Deželak, Aljoša Bavec
Peptidni agonisti receptorja za glukagonu podobni peptid-1 ter njihova uporaba pri zdravljenju sladkorne bolezni tipa 2 in debelosti / *Glucagon like peptide-1 receptor agonists and their application in treatment of diabetes mellitus type 2 and obesity*

218 Rok Frlan
Zaviralci ureaze / *Urease inhibitors*

227 Suhadolc K., Sešek Briški A., Osredkar J.
Teoretične osnove ^{13}C dihalnih testov / *Theoretical basics ^{13}C breath test*

236 Bojan Madjar
Samozdravljenje akutne driske pri otroku / *Self-medication of acute diarrhoea in children*

246 PREBRALI SMO ZA VAS — SHORT PHARMA NEWS

250 NOVI DOKTORJI ZNANOSTI — NEW DOCTORS OF SCIENCE

256 IZ DRUŠTVENEGA ŽIVLJENJA — ACTIVITIES OF THE SOCIETY

262 OSEBNE VESTI — PERSONAL NEWS

NASTANEK, RAZVOJ IN DIAGNOSTIKA ALZHEIMERJEVE BOLEZNI

ETIOPATHOGENESIS AND DIAGNOSTICS OF ALZHEIMER'S DISEASE

AVTOR / AUTHOR:
Andreja Emeršič, mag. farm.[1,2],
prof. dr. Zvezdan Pirtošek, dr. med., spec.[1]

[1] *Laboratorij za kognitivno nevroznanost, Klinični oddelek za bolezni živčevja, Nevrološka klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška 2, 1000 Ljubljana*
[2] *Entrapharm d.o.o., Pot k sejmišču 30, 1231 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: andreja.emersic@entrapharm.com

POVZETEK
Alzheimerjeva bolezen je progresivna nevrodegenerativna bolezen, ki postopoma vodi v upad spominskih in drugih intelektualnih sposobnosti, vedenjske motnje in spremembe osebnosti. Je najpogostejši vzrok za demenco, ki postaja zaradi staranja populacije vse večji socialni in tudi ekonomski problem. Trenutno je v Evropi več kot 6 milijonov bolnikov z demenco, od tega jih ima več kot polovica Alzheimerjevo bolezen. Kljub pomembnim doprinosom k razumevanju patogeneze, biološke osnove Alzheimerjeve bolezni še niso v celoti pojasnjene. Ker proti Aβ usmerjene učinkovine v kliničnih raziskavah ne izkazujejo želene učinkovitosti, se pojavljajo pomisleki o ustreznosti prevladujoče hipoteze o amiloidni kaskadi. Medtem ko se ugiba o novih in dodatnih vzrokih za nastanek bolezni, lahko vpeljava bioloških označevalcev, ki omogočajo zgodnejšo postavitev diagnoze Alzheimerjeve bolezni, izboljša zasnovo prihajajočih kliničnih študij.

KLJUČNE BESEDE:
Alzheimerjeva bolezen, etiologija, amiloidni peptid beta, diagnoza, biološki označevalci

ABSTRACT
Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder that gradually leads to decline in memory and other intellectual functions, changes in personality and behavioral disturbances. With a rapidly aging population in the developed world dementia caused by Alzheimer's disease is becoming a growing social and economic problem. In Europe, the estimated number of patients who have dementia is over 6 million and more than half of these patients have Alzheimer's disease. Despite major progress has been made in our understanding of the underlying pathogenesis, the biological basis of AD is still not fully understood. As failures of compounds targeting amyloid beta in clinical trials are repeatedly reported, the prevailing amyloid cascade hypothesis is being questioned in terms of its causality. Other also plausible etiologies are arising meanwhile new drugs are already urgently needed. Since biomarkers for the pathophysiological process of AD enable early diagnosis and patient stratification, they may be of great value in clinical trial design.

KEY WORDS:
Alzheimer's disease, etiology, amyloid beta peptide, diagnosis, biomarkers

1 UVOD

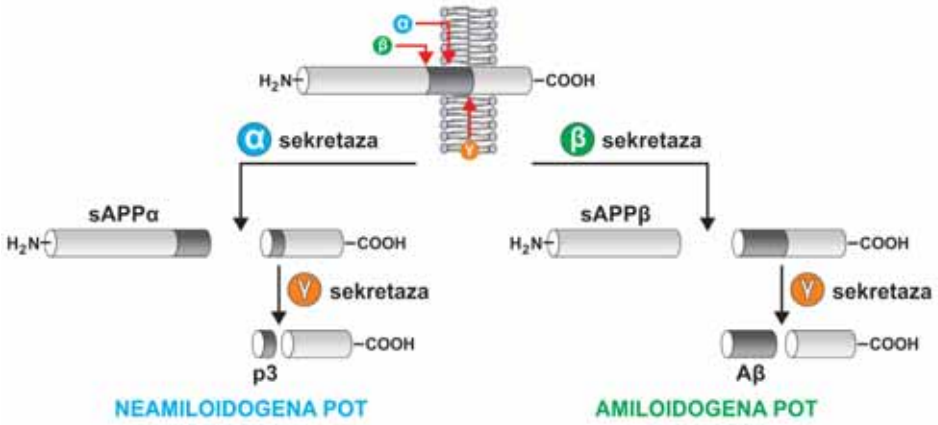
Alzheimerjeva bolezen (AB) je kronična in počasi napredujoča nevrodegenerativna bolezen, za katero trpijo milijoni ljudi po svetu. Postopoma vodi v upad spominskih in drugih intelektualnih sposobnosti, vedenjske motnje in spremembe osebnosti. Je najpogostejši in najbolj intenzivno raziskovan vzrok demence (1, 2). Sindrom demence glede na evropske epidemiološke raziskave prizadene 1 od 20 ljudi nad 65 letom starosti. Pred tremi leti je bilo število starostnikov z demenco v Evropi ocenjeno na 6,3 milijona, pri čemer naj bi se letna incidenca gibala blizu 1 milijona. Več kot polovica teh bolnikov ima Alzheimerjevo demenco. Brez pomembnega napredka v preprečevanju in zdravljenju bolezni je v prihodnje pričakovati, da bodo te številke zaradi staranja prebivalstva skokovito narasle. Ob tem so Alzheimerjeva in druge oblike demenc že zdaj četrte po vzrokih smrti v razvitih državah (3-5). Kljub obsežnim raziskovalnim prizadevanjem in številnim doprinosom k razumevanju patogeneze v zadnjih desetletjih, biološke osnove AB še niso v celoti pojasnjene, bolezen pa ostaja neozdravljiva (4).

2 SPREMEMBE V MOŽGANIH

Alois Alzheimer je leta 1906 prvi povezal klinično sliko pokojne dementne bolnice s pri obdukciji odkritimi nepravilnostmi v možganih (6). Od takrat pa vse do danes so senilne lehe in nevrofibrilarne pentlje ključna nevropatološka znamenja Alzheimerjeve bolezni. Post mortem ugotovljena prisotnost le-teh še vedno predstavlja definitivni kriterij za postavitev diagnoze bolezni (7).

2.1 SENILNE LEHE

So degenerativna žarišča izven nevronov in v okolici možganskih žil, ki imajo v središču amiloidne odlage, v obrobju pa distrofične nevrite in dendrite ter aktivirane astrocite in mikroglijo (8). Njihovo amiloidno jedro sestavlja pretežno amiloidni peptid beta (Aβ), ki nastaja s proteolitično cepitvijo transmembranskega proteina – amiloidnega prekurzorskega proteina (APP). APP se sintetizira v nevronih in celicah glije, njegovo proteolitično cepitev pa katalizirajo proteaze, imenovane α-, β- in γ-sekretaze. Z zaporednim delovanjem α- in γ-sekretaze nastajajo neamiloidogeni produkti, saj α-sekretaza katalizira cepitev APP znotraj regije Aβ. Aβ nastaja le kadar na APP najprej deluje β-sekretaza, ki odcepi sAPPβ tako, da novonastali N-terminalni konec preostalega fragmenta C99 ustreza prvi aminokislini peptida Aβ. Encimski kompleks γ-sekretaza nato cepi fragment C99 med aminokislinskimi ostanki 38-43, zaradi česar po tej *amiloidogeni* poti nastajajo peptidi Aβ različnih dolžin (slika 1). Količinsko je med njimi najbolj zastopan Aβ40, Aβ42 je le 10 %. Kljub temu ravno slednji prevladuje v zunajceličnih amiloidnih odlagah, najverjetneje zato, ker je ta oblika bolj hidrofobna in zato bolj nagnjena k agregaciji in tvorbi fibril (9,10). Čeprav Aβ42 primarno povezujejo z zunajceličnimi odlagami, se je v zadnjem desetletju zbralo tudi precej dokazov o njegovi znotrajcelični akumulaciji. Na transgenih živalskih modelih AB so pokazali, da lahko znotrajcelični Aβ vpliva na delovanje sinaps, posledično pa tudi na učenje in spomin (10).



Slika 1: Procesiranje amiloidnega prekurzorskega proteina (APP) po neamiloidogeni (levo) in amiloidogeni (desno) poti.
Figure 1: Proteolytic processing of APP within the anti-amyloidogenic (left) and amyloidogenic (right) pathways.

2.2 NEVROFIBRILARNE PENTLJE

So sestavljene iz parnih, vijačno zvitih nevrofilamentov hiperfosforiliranega proteina tau. Tau v normalnih nevronih povezuje tubulin v nevrotubule, ki so pomembni za aksoplazemski transport snovi. Zaradi zvečane aktivnosti kinaze proteina tau prihaja do čezmernega fosforiliranja tega proteina, ki zatem ni več vezan na mikrotubule, temveč leži prosto v citosolu (11,12). K zvečani aktivnosti kinaze proteina tau naj bi prispeval tudi Aβ, čeprav časovna in prostorska povezava med senilnimi lehami in nevrofibrilarnimi pentljami ni dobro pojasnjena. Opazili so namreč, da naj bi se zunajcelični Aβ pričel odlagati v frontalnem korteksu in se nato razširil po celotni skorji, medtem ko se nevrofibrilarne pentlje najprej pojavijo v limbičnem sistemu (entorinalna skorja, hipokampus, dentatni girus) in šele nato v skorji (11, 13). Kljub temu, da so nevrofibrilarne pentlje značilna znotrajcelična sprememba (opazne v perikarionu nevronov ter v distrofičnih nevritih in dendritih senilnih leh), lahko po odmrtju nevronov ostanejo še nekaj časa v zunajceličnem prostoru. Ker odmirajo tudi nevroni brez nevrofibrilarnih pentelj, še ni jasno, ali so vzrok ali posledica nevrodegenerativnega procesa (12, 14).

2.3 ANATOMSKE IN BIOKEMIČNE SPREMEMBE

Poleg senilnih leh in nevrofibrilarnih pentelj se v možganih bolnikov z AB pojavljajo še druge strukturne in funkcionalne spremembe, vključno z vnetnim odzivom in oksidativnim stresom (10). Skupna posledica vseh patoloških dejavnikov je znatno prizadeto delovanje nevronov in sinaps ter njihovo obsežno propadanje. Izginjanje specifičnih nevronov se odraža v biokemičnih spremembah kot so npr. znižana koncentracija receptorjev za glutamat v možganski skorji (zaradi propada piramidnih celic) ter upadanje aktivnosti holin-acetiltransferaze in posledično znižana koncentracija acetilholina v hipokampusu in možganski skorji (zaradi propada holinergičnih nevronov). Propadanje nevronov vodi sčasoma tudi v anatomske spremembe – značilna je izrazita atrofija možganovine v asociacijskih predelih možganske skorje (v temporalnem, frontalnem in parietalnem režnju) ter razširitev stranskih ventriklov. V času smrti so lahko možgani bolnikov z AB tudi za tretjino lažji od možganov ne-dementnih posameznikov enake starosti (10,12).

3 ETIOPATOGENEZA

Kaj točno je vzrok za nastanek AB je še vedno predmet razprav. Le za 3-5 % vseh primerov AB vemo, da so vzrok zanjo mutacije v genih, ki se dedujejo avtosomno dominantno. V teh primerih govorimo o družinski obliki AB oz. obliki z zgodnjim začetkom (med 45. – 65. letom starosti). Mutacije v genu za APP ali genih za preseniline (PSEN1 ali PSEN2), ki so katalitična jedra encimskega kompleksa γ-sekretaze, pogosto vodijo v spremenjeno procesiranje APP tako, da nastaja celokupno več Aβ ali le več daljših oblik (Aβ42) tega peptida (12,13). Precej bolj pogosta sporadična oblika bolezni nastopi po 65. letu starosti in ni vzročno povezana z mutacijami v genih, čeprav tudi v teh primerih ne moremo povsem zanemariti genetskih dejavnikov. Znano je na primer, da imajo nosilci alela *ApoE4* večje tveganje za pojav AB, poleg tega pri njih bolezen nastopi 5 – 10 let prej. Homozigoti za *ApoE4* imajo po 85. letu starosti ~ 60 % tveganje za nastanek AB, kar je približno dvakrat več kot posamezniki z eno kopijo tega alela; pri *ApoE3* homozigotih je to tveganje 10 % (13, 15). Izvzemajoč starost ob nastopu bolezni imata sporadična in družinska oblika AB podobne značilnosti – nevrološke in histopatološke. Od tod izhaja tudi predpostavka, da je možno z amiloidnimi odlagami razložiti patogenezo obeh oblik bolezni. Spoznanja o družinski AB so v začetku devetdesetih let prejšnjega stoletja botrovala oblikovanju hipoteze o amiloidni kaskadi, ki ima v nekoliko posodobljeni obliki, še danes veliko zagovornikov (13, 16, 17).

3.1 HIPOTEZA AMILOIDNE KASKADE

Hipoteza amiloidne kaskade pravi, da je vzrok za nastanek AB povečano nastajanje ali zmanjšano odstranjevanje Aβ. Izvorno so predpostavljali, da akumulacija hidrofobnega Aβ vodi v njegovo agregacijo in nastajanje netopnih leh v možganih, te pa nato sprožijo sosledje škodljivih sprememb (vključno s tvorbo znotrajceličnih nevrofibrilarnih pentelj), ki se odražajo v odmiranju nevronov oz. klinično v kognitivnem upadu (13, 16). Kasneje se je izkazalo, da breme senilnih leh ne korelira dobro s spominskim upadom, prav tako so s slikovnimi metodami ugotovili, da so zunajcelične amiloidne odlage prisotne tudi pri kognitivno ohranjenih posameznikih. Hkrati se pri mnogih mišjih modelih AB spominske težave nakazujejo še preden je v njihovih možganih opaziti lehe (13, 17). Ker prisotnost amiloidnih leh ne pomeni nujno tudi spominskih deficitov je torej možno, da te niso vzrok temveč le posledica oz. sekundarni znak nevro-

degenerativnega procesa. Zato sedaj predvidevajo, da lahko omenjeno zaporedje dogodkov izzovejo druge oblike Aβ – npr. znotrajcelične odlage amiloida, spremenjeno razmerje med Aβ42/Aβ40 in predvsem topni agregati peptida, t. j. oligomerne zvrsti Aβ (slika 2).

Topni oligomeri Aβ naj bi bolje korelirali s stopnjo AB, čeprav njihova struktura, velikost, konformacija in medsebojno razmerje z drugimi amiloidnimi agregati ni natančno opredeljeno (13, 18). Nevrotoksične učinke naj bi posredovali preko različnih receptorjev (receptorja za nevronski rastni dejavnik – NGFR, NMDA receptorja, inzulinskega receptorja, celičnega prionskega proteina – PrP^{c}), lahko da zato, ker so tako raznoliki ali ker so enostavno bolj »lepljivi« – imajo detergentom podobne lastnosti. Poleg tega, da vplivajo na znotrajcelično signaliziranje naj bi povečali tudi prepustnost celičnih membran ter tako okvarili homeostazo ionov, z vstopanjem v celice (preko internalizacije receptorjev) in znotrajcelično akumulacijo pa naj bi prizadeli številne celične procese – delovanje proteosoma, mitohondrijev, nastajanje reaktivnih kisikovih zvrsti, avtofagijo (18). Iz možganov bolnikov z AB so *post mortem* izolirali različne oligomerne zvrsti Aβ. Za dimere Aβ, izolirane iz njihovega likvorja, so pokazali, da učinkovito preprečijo dolgoročno potenciacijo (*ang. long-term potentiation*) v hipokampusu, in to v pikomolarnem območju (13). Dokazi iz gentskih študij, histopatoloških pregledov možganov ter poskusov na celičnih in živalskih modelih tako v dobršni meri podpirajo posodobljeno hipotezo o amiloidni kaskadi, a vseeno niso tako neizpodbitni, da bi bila vsesplošno sprejeta (preglednica 1) (7,13, 19).

Slika 2: Posodobljena hipoteza o amiloidni kaskadi predvideva, da je vzrok za nastanek družinske in sporadične oblike Alzheimerjeve bolezni prekomerno kopičenje Aβ42. Z agregacijo Aβ42 se sproži kaskada dogodkov, ki postopoma vodijo v nevrološke simptome Alzheimerjeve bolezni.
Figure 2: The amyloid cascade hypothesis explains the origins of Alzheimer's disease. Both familial forms of Alzheimer's and later-onset forms with no known etiology (sporadic AD) lead to the production of excess Aβ42. Once this toxic peptide begins to aggregate, a cascade of events is triggered that produces the neurological symptoms of Alzheimer's disease.

povečano nastajanje, zmanjšano odstranjevanje ali povečana agregacija Aβ42
↓
oligomerizacija Aβ42 in odlaganje v obliki difuznih odlag
↓
učinki oligomerov Aβ42 na sinapse
↓
aktivacija mikroglije in astrocitov
↓
napredujoča poškodba sinaps in nevritov
↓
spremenjena homeostaza ionov in oksidativne poškodbe nevronov
↓
spremenjena aktivnost kinaz in fosfataz (nastajanje nevrofibrilarnih pentelj)
↓
moteno delovanje nevronov, celična smrt, moten nevrotransmitrski prenos
↓
demenca

3.2 ALTERNATIVNE HIPOTEZE

Poleg vodilne hipoteze o amiloidni kaskadi poskušajo patologijo AB pojasniti (ali vsaj dopolniti) tudi druge neodvisne razlage (preglednica 2). Glavno konkurenco amiloidni predstavlja naslednja najbolj dovršena hipoteza o vzročni povezanosti s hiperfosforiliranim proteinom tau (18, 19). Nekatere od alternativnih hipotez obravnavajo na primer še vpletenost okolijskih dejavnikov (kot so porast izpušnih plinov v ozračju, stres, prehrana, prekomerna uporaba antibiotikov, odsotnost intelektualne aktivnosti) in spremljajočih tkivnih poškodb, ki so povezane s procesom staranja, vnetjem, aktivacijo prirojenega imunskega sistema in oksidativnim stresom v osrednjem živčevju. Zaključek ameriškega Nacionalnega inštituta za zdravje (*angl. NIH- National Institute for Health*), ki je leta 2010 izvedel pregled literature s tega področja, je sicer bil, da trenutno ni zadostnih in znanstveno oprijemljivih dokazov, ki bi podpirali povezavo med katerimkoli *spremenljivim* dejavnikom in znižanim tveganjem za AB (15). Na določeni stopnji je nastajanje Aβ nedvomno vključeno v razvoj, če že ne nastanek AB (7, 20). Vseeno pa neuspehi, ki jih nizajo klinične raziskave z učinkovinami, usmerjenimi proti Aβ, silijo h kritičnemu razmišljanju in priznanju, da bo morda potrebno spremeniti dojemanje njene etiologije. Ob tem prihajajo ponovno v ospredje alternativne hipoteze, kakor tudi pogosto spregledano dejstvo, da ima lahko Aβ tudi določene fiziološke funkcije, saj nastaja pri vseh ljudeh, le da jih večina ne razvije demence (7, 15).

Preglednica 1: Dognanja, ki podpirajo in izpodbijajo hipotezo o amiloidni kaskadi. Hipotezo lahko vrednotimo na 4 nivojih – molekularni genetiki, patologiji, celični biologiji in živalskih modelih (7, 13).
Table 1: Pros and cons for the amyloid cascade hypothesis. Table provides an overview of some of the most important lines of evidence. The hypothesis can be evaluated along four themes - molecular genetics, pathology, cell biology and animal models (7, 13).

	DOGNANJA, KI PODPIRAJO HIPOTEZO	DOGNANJA, KI IZPODBIJAJO HIPOTEZO
MOLEKULARNA GENETIKA	Mutacije v genih APP, PSEN1, PSEN2, ki povzročajo družinsko obliko AB, vodijo v povečano nastajanje Aβ42. Gen *APP* se nahaja na 21. kromosomu; posamezniki z Downovim sindromom (trisomija 21. kromosoma) s 3 kopijami gena *APP* izkazujejo znake zgodnje oblike AB. Večina mutacij v *APP* se nahaja blizu mesta cepitve, ki vodi v nastajanje Aβ. Tiste znotraj fragmenta Aβ naj bi povečale fibrilizacijo Aβ. *ApoE4*, ki je povezan s povečanim odlaganjem Aβ, je najpomembnejši genetski dejavnik tveganja za pojav sporadične AB.	Družinska oblika AB predstavlja < 5 % vseh primerov bolezni. Mutacije niso dokaz, da je Aβ tudi primarni vzrok bolezni. Mutacije v APP in PSEN lahko povzročijo bolezen preko mehanizmov, ki niso odvisni od Aβ. Povečano nastajanje Aβ42 je le ena od možnih posledic spremenjenega procesiranja APP. Poleg Aβ nastajajo pri proteolitični razgradnji APP tudi drugi potencialno nevrotoksični produkti. ApoE4 ima veliko funkcij, ki niso vezane na Aβ in mehanizem, preko katerega ApoE4 zveča tveganje za AB, ni natančno znan.
PATOLOGIJA	Prisotnost amiloidnih leh je eden od diagnostičnih kriterijev; povezana je s kognitivnim upadom.	~ 30 % zdravih starostnikov ima amiloidne odlage, a ne znakov kognitivnega upada. V primerjavi z nevrofibrilarnimi pentljami razporeditev senilnih leh v možganih slabše korelira s kognitivnimi motnjami, značilnimi za AB. Številne raziskave niso potrdile povezave med demenco in distribucijo ter celokupnim bremenom amiloidnih leh. Ni pokazano, da bi odstranitev senilnih leh ublažila simptome bolezni .
CELIČNA BIOLOGIJA	Pokazana je nevrotoksičnost sinteznega peptida Aβ in proteina tau – Aβ lahko povzroči aktivacijo kinaz, hiperfosforilacijo proteina tau, vnetje, oksidativni stres, in apoptozo nevronov.	Učinki niso tako izraziti, da bi z njimi lahko razložili obsežno propadanje nevronov. Učinke težko prenesemo na pogoje *in vivo*. V *in vitro* poskusih večinoma uporabljajo izoliran Aβ42 v koncentracijah, ki so tudi do 1000- krat višje od fizioloških. Glede na hidrofobne lastnosti se Aβ v *in vivo* pogojih verjetno ne nahaja v prosti obliki temveč vezan na druge hidrofobne proteine. Akutna izpostavitev izoliranemu Aβ ne ponazarja postopnega nalaganja Aβ in nastopa AB.
ŽIVALSKI MODELI	Transgene miši s prekomernim izražanjem APP ali PSEN1 izkazujejo povečano nastajanje Aβ42 in kognitivne motnje. Topni oligomeri Aβ vplivajo na dolgoročno potenciacijo *(ang. long-term potentiation*) v hipokampusu trangenih mišjih modelov AB.	Prekomerno izražanje APP ni značilno za sporadično obliko AB pri ljudeh. Prekomerno izražanje proteinov lahko povzroči moteno delovanje celic neodvisno od Aβ. Čezmerno nastajanje Aβ velikokrat ne povzroči nastanka nevrofibrilarnih pentelj in atrofije pri transgenih mišjih modelih AB; ker taki modeli ne odražajo tau patologije so kvečjemu modeli amiloidne proteinopatije in ne AB kot take. Motnje v delovanju nevronov so opazili tudi pred pojavom senilnih leh pri živalih.

Preglednica 2: Alternativne hipoteze in dejavniki tveganja za razvoj patologije Alzheimerjeve bolezni.
Table 2: Alternative theories to AD causality. The most advanced alternative hypothesis of tau hyperphosphorylation along with other possible explanations (some more of a risk factor rather than critical underlying mechanism of the disease).

MOŽEN VZROK/ DEJAVNIK TVEGANJA	RAZLAGA
Hiperfosforilacija beljakovine tau	Nevrofibrilarne pentlje so opazne v možganih bolnikov še pred pojavom senilnih leh in v primerjavi s slednjimi bolje korelirajo z opaženim vzorcem atrofije in kognitivnimi simptomi v zgodnji fazi bolezni (7, 15). Aβ posreduje toksične učinke preko proteina tau – le v povezavi z njim so pokazali znatno z Aβ izzvano nevrodegeneracijo (7). Mutacije v genu *tau* povzročajo avtosomno dominantno frontotemporalno demenco s podobno patologijo kot jo srečamo pri AB, le brez pojava zunajceličnih amiloidnih odlag, kar pomeni, da lahko do nevrodegeneracije prihaja tudi v odsotnosti Aβ (15).
Staranje	Starost je glavni dejavnik tveganja za AB. S staranjem se možgani, kakor tudi preostal organizem, manj uspešno spopadajo z različnimi poškodbami in stresnimi dejavniki. Starostno odvisna hipoteza izhaja iz celične biologije možganov, oslabljene zaradi normalnega procesa staranja. Običajen s starostjo povezan kognitivni upad naj bi se prevesil v patofiziologijo AB ob naslednjih zaporednih dogodkih: 1) začetna poškodba tkiva, 2) kronično vnetje in 3) spremenjena celična fiziologija, zaradi katere so celice nagnjene k propadanju. Staranje naj bi predvsem povečalo verjetnost, da homeostatski mehanizmi niso sposobni zaustaviti vnetnega odziva potem, ko je poškodba že odpravljena (7, 22).
ApoE4	Je najpomembnejši genetski dejavnik tveganja za AB. ApoE izločajo predvsem astrociti in celice mikroglije. Ima ključno vlogo pri transportu lipidov možganih, popravljanju poškodovanih nevronov in vzdrževanju sinaptičnih povezav. Z veliko afiniteto veže tudi Aβ izločen iz celic. Izooblika ApoE4 ima v primerjavi z ApoE3 in ApoE2 manjšo afiniteto do Aβ zato je manj učinkovita pri njegovem odstranjevanju in spodbuja njegovo agregacijo (19). ApoE4 je v primerjavi z ApoE3 bolj dovzeten za proteolizo do nevrotoksičnih fragmentov, ki spodbujajo moteno delovanje mitohondrijev, prav tako pa pospešuje hiperfosforilacijo proteina tau (15).
Diabetes	Inzulinska rezistenca in moten metabolizem glukoze sta znan dejavnik tveganja za AB. Inzulin prehaja krvno-možgansko pregrado in vpliva na koncentracijo Aβ42 v likvorju. Inzulinski receptorji se nahajajo v področjih možganov, ki jih pri AB zgodaj zajame proces nevrodegeneracije (hipokampus, entorinalna skorja). Encim IDE (*angl. insulin degrading enzyme*) je vključen v klirens Aβ iz možganov; Aβ in inzulin sta kompetitivna substrata tega encima. Periferna hiperinzulinemija lahko zmanjša prehajanje inzulina čez hematoencefalno bariero, kar se odraža z znižanimi nivoji inzulina v možganih in zmanjšanim izražanjem IDE. Zaradi zmanjšanih učinkov inzulina na metabolizem Aβ in z inzulinom povezane cerebrovaskularne disfunkcije se v povezavi z AB pojavlja celo pojem »sladkorne bolezni tipa 3«. Možni prekrivajoči mehanizmi sladkorne bolezni in AB so privedli do raziskovanja terapevtskega potenciala nekaterih antidiabetikov v zdravljenju AB (15, 23).
Vnetno-imunski odziv	Vnetje je tudi pri AB dvorezen meč – mikroglija ima primarno nevroprotektivno vlogo (fagocitoza in razgradnja Aβ), a lahko postane sčasoma tudi pretirano dejavna. Morda neprestan stik z Aβ vodi do preklopa fenotipa celic mikroglije, ki so zato manj učinkovite pri odstranjevanju Aβ, neprestano nastajanje kemokinov in vnetnih produktov pa pripomore k napredovanju nevrodegenerativnega procesa (15, 24). Nekatere retrospektivne raziskave so nakazovale, da naj bi jemanje nesteroidnih antirevmatikov zmanjšalo incidenco AB, vendar prospektivne študije dajejo neskladne rezultate. Vnetna komponenta AB pridobiva pomen tudi preko inzulinske rezistence in potencialno vključenih s TNF (*angl. tumor necrosis factor*) izzvanih vnetnih poti (15).
Infekcije	Proteinopatije,ki jih povezujemo z nevrodegenerativnimi boleznimi, imajo veliko vzporednic s prionskimi boleznimi zato se je pojavila hipoteza, da so lahko morda prionske ali virusne infekcije vzrok AB in drugih nevrodegenerativnih bolezni (14, 15).

Vzrokov, da omenjene spojine v 3. fazi kliničnih študij nimajo želene učinkovitosti, je tako več. Lahko da je poznavanje njihovega mehanizma delovanja nepopolno ali, da so v naslednjo fazo kliničnih raziskav napredovale neprimerne kandidatne spojine. Možno je, da so izbrane tarčne populacije preveč heterogene in vključujejo tudi bolnike, pri katerih morda vzrok za demenco ni AB ali da je pri mnogih od njih bolezen že tako napredovala, da zaradi obsežnega propada nevronov koristi zdravljenja, ki naj bi imelo vpliv na sam potek bolezni, ne moremo opaziti (15, 21). Lahko da toksična oblika Aβ ustvari zanko škodljivih dogodkov, ki se sama vzdržuje tudi po odstranitvi vzroka ali da enkrat sproženega zaporedja škodljivih sprememb enostavno ni več mogoče zaustaviti (13). Enako verjetno pa je seveda tudi, da Aβ ni (edini) vzrok za pogubne dogodke, temveč le eden od enakovrednih dejavnikov, ki vodijo v bolezen ali samo zgodnji odziv na še neznano etiologijo v ozadju oz. nad njim (7, 13). Nobena od trenutno obstoječih hipotez namreč ne razloži v zadostni meri vseh biokemičnih in patoloških posebnosti AB (19).

4 KLINIČNA SLIKA

Zaradi počasi razvijajoče se nevropatologije, se AB kaže kot napredujoča motnja kognitivnih sposobnosti (25). Prva znamenja bolezni so pogosto minimalne spremembe v obnašanju in spretnostih posameznika, ki jih pogosto pripisujemo stresu ali normalnemu staranju. Že zgodaj se pojavijo pozabljivost, upočasnjeno dojemanje, nemir, motnje v presoji in težave pri odločanju, kakor tudi depresivna disforija (pobito počutje) in zmanjšano zanimanje za druženje oz. socialni umik (25, 26). Prizadetost hipokampusa in holinergične projekcije v hipokampus sčasoma vodi v vse bolj očitne motnje spomina in učenja. Najprej je prizadeto prehajanje kratkoročnega v trajni spomin (14, 25). Spomin na dogodke pred začetkom bolezni je navadno še ohranjen, kažejo pa se izguba spomina za nedavne dogodke (epizodični spomin) in za podatke, ki niso vezani na prostor in čas, kot so npr. splošno znana dejstva (semantični spomin). Čeprav so spominske motnje in težave pri učenju in pomnjenju novih informacij velikokrat najbolj izrazite (amnestična slika), lahko pri nekaterih posameznikih prevladujejo neamnestični znaki, kot so motnje vidno-prostorskih zaznav (slabo oceni npr. razdaljo in hitrost, ima težave pri oblačenju in rokovanju z orodji) in afazija. Značilno je krčenje besedišča (težave z iskanjem pravih besed), zmanjšana besedna tekočnost ter manj natančno izražanje (25, 26). Bolnik je tudi slabo orientiran v trenutnem času in prostoru (se npr. izgublja, zamenjuje dan in noč), zmanjšana sposobnost načrtovanja, presojanja in organizacije pa mu otežujejo izvajanje zahtevnejših dnevnih opravil (npr. pripravo obrokov). Ko bolezen napreduje se pojavijo še nevropsihiatrični simptomi, ki se kažejo kot motnje čustvovanja in razpoloženja (depresija je pogosta, dokler imajo uvid v lastno stanje), psihoze (20 % jih ima vidne halucinacije), spremembe osebnosti in motnje vedenja (npr. socialno nesprejemljivo vedenje, verbalno in fizično nasilje). Vidna agnozija vključuje tudi nesposobnost prepoznave lastnega obraza in obrazov bližnjih. Bolnik postopoma izgubi sposobnost govora in drugih veščin in je v zadnjem stadiju bolezni povsem nebogljen ter v celoti odvisen od pomoči drugih. Od prvih kliničnih znakov AB do smrti mine v povprečju 8 – 10 let (25, 26).

5 DIAGNOSTIČNI POSTOPKI

Trenutno ni specifične laboratorijske preiskave, ki bi potrdila AB, zato diagnoza še vedno temelji na prepoznavanju kliničnih znakov bolezni. Najpogosteje uporabljani kriteriji za postavitev diagnoze Alzheimerjeve demence so (bili) DSM-IV (*angl. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) in kriteriji, ki jih leta 1984 izdal NINCDS-ADRDA (*angl. National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke – Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*). Na podlagi zadnjih je bilo moč opredeliti bolezen kot *možno*, *verjetno* in *zanesljivo*, pri čemer je bila diagnoza *zanesljiva* AB postavljena le pri bolnikih z *verjetno* AB, pri katerih so bile hkrati potrjene tudi patološke spremembe v možganih (z biopsijo ali avtopsijo) (27, 28). Kriteriji so bili zadovoljivo zanesljivi za diagnosticiranje *verjetne* AB, z ocenjeno diagnostično občutljivostjo ~80 % in specifičnostjo ~70 %. Zaradi novih spoznanj o bolezni se je v zadnjih desetletjih pojavila potreba po ponovnem pregledu in dopolnitvi obstoječih kriterijev (28, 29). Spomladi 2011 so bile tako objavljene nove diagnostične smernice, ki poleg vpeljave bioloških označevalcev prepoznavajo tudi tri in ne le eno fazo bolezni – predklinično fazo brez simptomov, fazo z blagimi kognitivnimi motnjami, ki bolnika ne ovirajo pri dnevnih aktivnostih ter fazo razvite demence (29)

5. 1 DIAGNOZA DEMENCE (NE GLEDE NA VZROK)

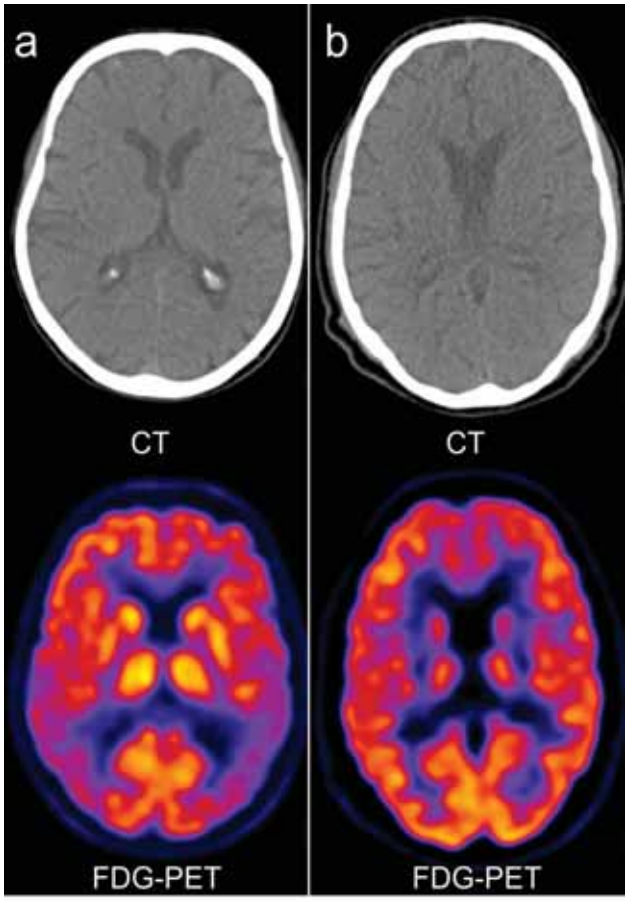
O demenci govorimo šele kadar kognitivni ali vedenjski simptomi pri bolniku napredujejo do te mere, da ga ovirajo pri vsakodnevnih opravilih. Odražajo jasen odklon od prejšnje stopnje funkcioniranja in jih ni moče razložiti z drugimi psihiatričnimi, nevrološkimi ali sistemskimi boleznimi. Kognitivni upad se oceni na podlagi pogovora in objektivne ocene, pridobljene s kratkim pregledom umskih sposobnosti ali daljšim nevropsihološkim testiranjem (27, 29). Kognitivna ali vedenjska motnja se kaže vsaj v dveh od sledečih domen: i) nesposobnost za priklic in pomnjenje novih informacij, ii) oteženo izvajanje zahtevnih opravil zaradi zmanjšane sposobnosti sklepanja in razsodnosti, iii) motnje vidno-prostorskih zaznav, iv) motnje govora, v) spremembe osebnosti oz. vedenja (29).

5.2 DIFERENCIALNA DIAGNOZA DEMENC

Najpogostejše oblike demence, ki predstavljajo približno 90 % vseh primerov demenc, so Alzheimerjeva demenca, demenca z Lewyjevimi telesci, mešana demenca, vaskularna demenca ter fronto-temporalne demence. Celotna diferencialna diagnoza demenc je sicer precej obsežnejša in poleg primarno degenerativnih bolezni vključuje še sekundarne etiologije. V stopenjski obravnavi bolnika so zato pomembne tudi laboratorijske in slikovne preiskave, na podlagi katerih lahko izključimo najpogostejše ozdravljive oz. reverzibilne vzroke demenc, kot so na primer depresija, neželeni učinki zdravil, metabolne in nutricijske motnje, pa tudi možganski tumorji, subduralni hematomi, hidrocefalus in nekatere infekcije. Rutinsko se priporočajo predvsem osnovne krvne preiskave, preiskave za ugotavljanje ščitnične funkcije ter določanje serumske vrednosti vitamina B_{12} in folne kisline. Druge potencialno uporabne preiskave so npr. hitrost sedimentacije eritrocitov, urinska analiza, serologija sifilisa in borelioze ter elektroencefalografija (EEG) (27, 30).

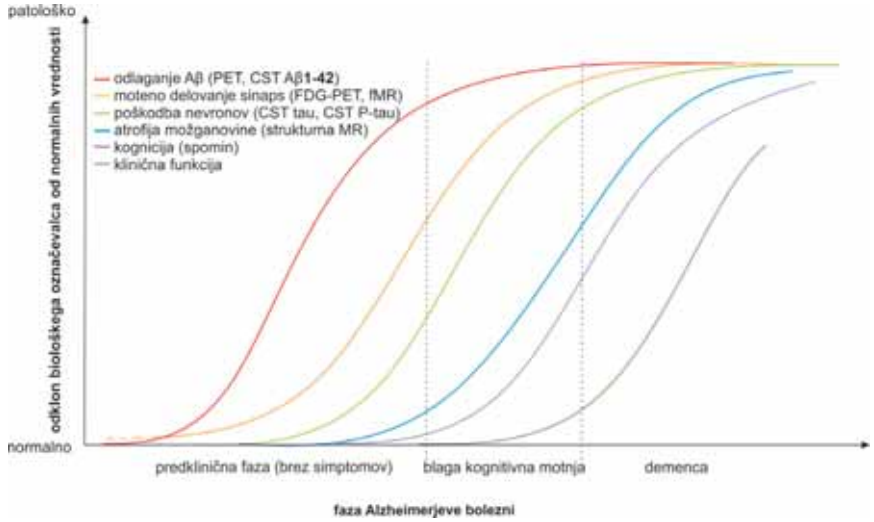
5.3 BIOLOŠKIH OZNAČEVALCI ALZHEIMERJEVE BOLEZNI

V širokem pomenu besede so biološki označevalci vsi fiziološki, biokemični in anatomski parametri, ki jih lahko merimo *in vivo* in ki odražajo značilnosti z boleznijo povezanega patofiziološkega procesa. Čeprav diagnostika AB še vedno sloni na vrednotenju klinične slike in izključevanju drugih vzrokov demence, se v diagnostično obravnavo vse bolj



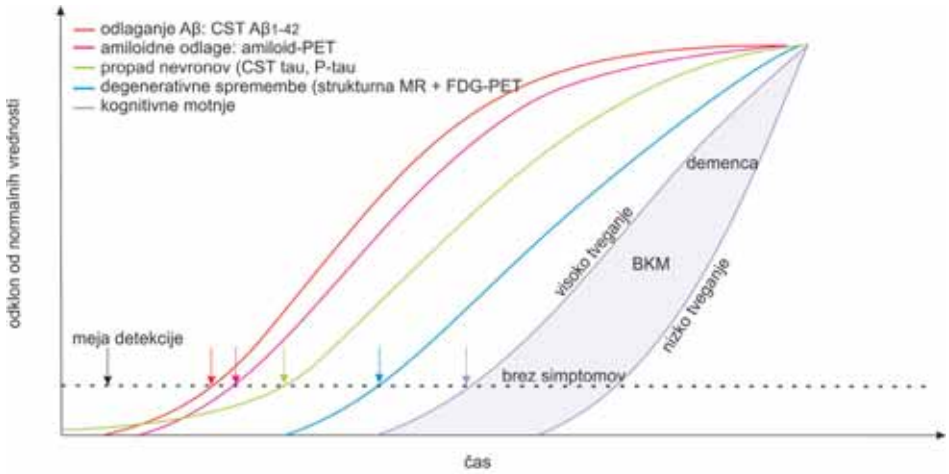
Slika 3: FDG-PET-CT pri bolniku z Alzheimerjevo boleznijo (a) in neprizadeti kontroli (b). Čeprav MR omogoča detajlnejši prikaz sprememb mehkih tkiv, tudi s CT opazimo posledico nevrodegenerativnega procesa pri bolniku - atrofija parietotemporalno (a). PET s fluorodeoksiglukozo (FDG) kot kontrastnim sredstvom omogoča merjenje možganske metabolne aktivnosti. Za bolnike z Alzheimerjevo boleznijo je značilna zmanjšana metabolna funkcija (zmanjšan privzem FDG) v temporalnem in parietalnem režnju. Slike je prijazno posredoval dr. M. Grmek, Klinika za nuklearno medicino, UKC Ljubljana. MR – magnetnoresonančno slikanje, CT – računalniška tomografija, PET – pozitronska emisijska tomografija.

Figure 3: FDG-PET-CT in patient with Alzheimer's disease (a) and unaffected individual (b). Although MRI provides much more detailed soft tissue images the result of degeneration in a patient with Alzheimer's disease can be seen on CT scan as well parietotemporal atrophy (a). FDG implemented PET allows for examinations of metabolic brain function. Patients with Alzheimer's disease show evidence of decrease in metabolic activity, particularly in the temporoparietal regions. Images were kindly provided by M. Grmek, Department of Nuclear Medicine, University Medical Centre Ljubljana.



Slika 4a: Model dinamike bioloških označevalcev Alzheimerjeve bolezni. Na vertikalni osi je relativni dinamični razpon od normalnih vrednosti pri zdravi populacij do maksimalno odklonilnih vrednosti pri bolnikih z Alzheimerjevo demenco. Aβ – amiloid β, PET – pozitronska emisijska tomografija, FDG – fluorodeoskiglukoza, CST – cerebrospinalna tekočina, P-tau – fosfo-tau, fMR – funkcionalna magnetna resonanca (po 32).

Figure 4a: Model of dynamics of biomarkers of Alzheimer's disease. Each biomarker is scaled in relation to its own full dynamic range from values recorded in completely unaffected individuals to maximally abnormal values in patients with end-stage dementia. Progressive clinical disease stage is on the horizontal axis (after 32).



Slika 4b: Posodobljen model dinamike bioloških označevalcev Alzheimerjeve bolezni in njihovi odkloni od normalnih vrednosti v odvisnosti od časa. Kognitvne motnje so označene kot območje, omejeno s krivuljama, ki ponazarjata posameznike z visokim oziroma nizkim tveganjem za razvoj demence. Meja detekcije patofizioloških odklonov je ponazorjena s prekinjeno črto. Upoštevano je, da se patologija beljakovine tau lahko pojavi pred odlaganjem Aβ, a pod mejo zaznave. Vrednosti Aβ42 v likvorju se znižajo nekoliko prej, kot je opazna povečana retencija amiloidnega označevalca na PET. Sigmoidne krivulje nimajo več enakih oblik in so narisane bližje ena drugi, kar nakazuje manj izrazito časovno ločenost med njimi (32).

Figure 4b: Revised model of dynamics of biomarkers of Alzheimer's disease pathological cascade. Cognitive impairment is illustrated as a zone with low-risk and high-risk borders. The threshold for biomarker detection of pathophysiological changes is denoted by the black dotted line. The horizontal axis in updated model is expressed as time. Tau pathology precedes Aβ deposition in time, but only early on at a subthreshold detection level. Aβ deposition then occurs independently and rises above the biomarker detection threshold. CSF Aβ42 is positioned slightly before amyloid PET and sigmoid curves are no longer identical – they are drawn closer together indicating less distinct temporal separation (32).

vpeljujejo tudi preiskave, ki omogočajo prikaz za bolezen značilnih sprememb (27, 28). Nove smernice zato predlagajo kriterije za razvrstitev demence zaradi AB v tri kategorije: i) *verjetna demenca AB*, ii) *možna demenca AB* in iii) *verjetna ali možna demenca AB z dokazi značilnega patofiziološkega procesa* (28). Med biološkimi označevalci, ki odražajo za AB značilen patofiziološki proces, ločijo kazalce kopičenja Aβ v možganih in kazalce degeneracije oz. poškodbe nevronov. Zaenkrat diagnostični kriteriji formalno vključujejo le pet najširše proučevanih bioloških označevalcev. V prvi skupini sta na pozitronski emisijski tomografiji (PET) opazna povečana retencija označevalca, ki se veže na Aβ ter znižana koncentracija Aβ42 v cerebrospinalni tekočini (CST), medtem ko degenerativne spremembe v možganih odražajo zvišana koncentracija proteina tau in fosfo-tau v CST, s PET zaznan zmanjšan privzem ^{18}F-deoksiglukoze v temporalnem in parietalnem režnju (slika 3) ter značilen vzorec atrofije možganovine pri strukturnem magnetnoresonančnem slikanju (28).

V smernicah je opisan tudi model spreminjanja teh bioloških označevalcev s časom in v posameznih fazah bolezni – t. i. model dinamičnih bioloških označevalcev, ki se naslanja na predvideno zaporedje patofizioloških dogodkov, kakršnega predvideva prevladujoča hipoteza o amiloidni kaskadi (31). Kazalca odlaganja Aβ v možganih naj bi tako postala deviantna pred vsemi ostalimi in to že zelo zgodaj, ko posamezniki še niso kognitivno prizadeti (lahko celo 20 let pred pojavom značilnih simptomov). Kazalci nevrodegeneracije postanejo očitno dinamični šele kasneje, ko se poveča nastajanje nevrofibrilarnih pentelj, pojavi moteno delovanje sinaps in izguba nevronov (slika 4a). Zato tudi bolje korelirajo s kognitivnimi simptomi in napredovanjem bolezni (31). Zaradi novih izsledkov o spreminjanju nekaterih bioloških kazalcev s časom in spoznanj, da se lahko patologiji Aβ in proteina tau pri sporadični obliki AB pričneta neodvisno, so originalni model nekoliko posodobili. Po novem upošteva tudi velike medosebne razlike v časovnem zamiku med pojavom kazalcev patofiziološkega procesa in kognitivno motnjo, ki jih lahko pojasnimo predvsem s posameznikovo kognitivno rezervo, spremljajočimi boleznimi in prisotnostjo znanih dejavnikov tveganja (slika 4b) (32).

Prisotnost omenjenih bioloških označevalcev lahko pri ljudeh, ki izpolnjujejo klinične kriterije za *verjetno AB,* poveča zanesljivost, da je sindrom demence dejansko posledica AB. Ker pa niso v celoti standardizirani in validirani, smernice še ne priporočajo njihove uporabe v rutinski diagnostiki. Trenutno se zato uporabljajo zlasti v raziskovalne namene in le kot pomoč v klinični praksi (28).

Med genetskimi biološkimi označevalci smernice upoštevajo le mutacije v genih *APP, PSEN1* in *PSEN2*, medtem ko genetski dejavnik tveganja *ApoE4* zaradi nezadostne specifičnosti (ni ne zadosten ne potreben dejavnik za razvoj AB) ni vključen v diagnostične kriterije (28). Genetsko testiranje je zato uporabno le v diagnostiki AB z nastopom v zgodnji življenjski dobi, kjer so prednosti zgodnje postavitve diagnoze predvsem možna upočasnitev napredovanja bolezni, možnost posameznika za sprejemanje različnih življenjskih odločitev, (vezanih na določeno razvojno obdobje), pa tudi bolj varno funkcioniranje v vsakdanjem življenju (nadzor svojcev, strokovnjakov). V primerih sporadične AB ima genetsko testiranje le majhno klinično uporabnost, saj možnosti preventive in kurative zaenkrat niso poznane (33).

6 SKLEP

Celični in živalski modeli so pomembno pripomogli k podrobnejšemu razumevanju mehanizmov nevrodegeneracije in proučevanju patogeneze AB. Prevladujoča predpostavka, da ima Aβ osrednjo vlogo v nastanku in razvoju bolezni, je poenostavila pojmovanje AB in olajšala razvoj spojin s potencialnim vplivom na njen potek. Vendar ta redukcionistični pristop v raziskovanju AB (še) ni prinesel želenih rezultatov. Kljub temu, da imamo sedaj spojine, ki *in vitro* preprečujejo nastajanje Aβ42 in pri živalih odpravljajo patologijo Aβ ter celo spominske motnje, nima nobena od njih pričakovane učinkovitosti v kliničnih študijah. Zdravila, ki bi pozdravilo AB, ni. Z vključevanjem bioloških označevalcev AB bo možno izboljšati načrtovanje kliničnih raziskav, saj lahko služijo ne le kot orodje za izbor primerne tarčne populacije (zgodnja faza bolezni z dokazi patofiziološkega procesa), temveč tudi kot nadomestni kazalci učinkovitosti. Po drugi strani se bo morda potrebno bolje zavedati kompleksnosti naravnega sistema in se osredotočiti na več tarčnih mehanizmov hkrati. Ločeno obravnavanje nevrodegenerativnih, vnetnih in žilnih obolenj vodi namreč v postavljanje enostavnih hipotez, ki jih v klinični praksi ne (ali le redko) uspemo potrditi. Tako smo še vedno na stopnji iskanja alternativnih (enostavnih) hipotez o vzrokih nastanka, in to v času, ko nujno potrebujemo zdravila, da bi se uspešno soočili z naraščajočim socialnim in ekonomskim bremenom te bolezni.

7 LITERATURA

1. Karantzoulis S, Galvin JE. Distinguishing Alzheimer's disease from other major forms of dementia. Expert Rev Neurother 2011; 11(11): 1579–1591.
2. Ubhi K, Masliah E. Alzheimer's disease: recent advances and future perspectives. Journal of Alzheimer's Disease : JAD 2013;33 Suppl 1:S185–94.
3. Gustavsson A, Svensson M, Jacobi F, Allgulander C, Alonso J, Beghi E, et al. Cost of disorders of the brain in Europe 2010. European Neuropsychopharmacology 2011;21(10):718–79.
4. Di Luca M, Baker M, Corradetti R et al. Consensus document on European brain research. European Journal of Neuroscience 2011;33:768–818.
5. World Health Organization. The top 10 causes of death. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index4.html. Dostop: 23. 6. 2013
6. Alzheimer A. Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozeß der Hirnrinde. Neurologisches Centralblatt 1906; 23: 1129–36.
7. Fjell AM, Walhovd KB. Neuroimaging results impose new views on Alzheimer's disease—the role of amyloid revised. Molecular Neurobiology 2012;45:153–72.
8. Dickson DW. The pathogenesis of senile plaques. J Neuropathol Exp Neurol 1997;56:321-39
9. Haass C, Kaether C, Thinakaran G, Sisodia S. Trafficking and proteolytic processing of APP. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine 2012;2:a006270.
10. LaFerla FM, Green KN, Oddo S. Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. Nature Reviews Neuroscience 2007;8:499–509.
11. Braak H, Del Tredici K. Evolutional aspects of Alzheimer's disease pathogenesis. Journal of Alzheimer's Disease: JAD 2013;33 Suppl 1:S155–61.
12. Bresjanac M, Bunc M, Črne-Finderle N, Grubič Z, Kamrič L, Kordaš M, Pavlin R, Ribarič S, Sket D, Sketelj J, Šuput D, Zorec R, Živin M. Izbrana poglavja iz patološke fiziologije. Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta. Ljubljana 2001.
13. Pimplikar SW. Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2009;41:1261–8.
14. Popovič M, Gazič B. Proteinopatije – bolezni odlaganja napačno zvitih beljakovin. Med Razgl 2008;47:391–402.
15. Mullane K, Williams M. Alzheimer's therapeutics: continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis-but what lies beyond? Biochemical Pharmacology 2013;85:289–305.
16. Reitz C. Alzheimer's disease and the amyloid cascade hypothesis: a critical review. International Journal of Alzheimer's Disease 2012;2012:doi:10.1155/2012/369808.
17. Haass C. Initiation and propagation of neurodegeneration. Nature Medicine 2010;16:1201–4.
18. Kayed R, Lasagna-Reeves CA. Molecular mechanisms of amyloid oligomers toxicity. Journal of Alzheimer's Disease : JAD 2013;33 Suppl 1:S67–78.
19. Dong S, Duan Y, Hu Y, Zhao Z. Advances in the pathogenesis of Alzheimer's disease: a re-evaluation of amyloid cascade hypothesis. Translational Neurodegeneration 2012;1:18.
20. Karran E, Mercken M, De Strooper B. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. Nature Reviews Drug Discovery 2011;10:698–712.
21. Blennow K. Biomarkers in Alzheimer's disease drug development. Nature Medicine 2010;16:1218–22.
22. Herrup K. Reimagining Alzheimer's disease—an age-based hypothesis. The Journal of Neuroscience 2010;30:16755–62.
23. Moreira PI. Alzheimer's disease and diabetes: an integrative view of the role of mitochondria, oxidative stress, and insulin. Journal of Alzheimer's Disease : JAD 2012;30 Suppl 2:S199–215.
24. Hickman SE, El Khoury J. The neuroimmune system in Alzheimer's disease: the glass is half full. Journal of Alzheimer's Disease : JAD 2013;33 Suppl 1:S295–302.
25. Alzheimer's Society. The progression of Alzheimer's disease and other dementias. http://www.alzheimers.org.uk/site/scripts/documents_info.php?documentID=133. Dostop: 29. 6. 2013
26. [Förstl H, Kurz A. Clinical features of Alzheimer's disease. European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience 1999;249:288–90.
27. Yaari R, Corey-Bloom J. Alzheimer's disease. Semin Neurol 2007;27(1):32-41.
28. Jack CR, Albert MS, Knopman DS, McKhann GM, Sperling R a, Carrillo MC, et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimer's & Dementia 2011;7:257–62.
29. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimer's & Dementia 2011;7:263–9.
30. Alzheimer's Association. Diagnosing Alzheimer's. http://www.alz.org/professionals_and_researchers_diagnostic_procedures.asp. Dostop: 1. 7. 2013
31. Sperling R a, Aisen PS, Beckett L a, Bennett D a, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimer's & Dementia 2011;7:280–92.
32. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. Lancet Neurology 2013;12:207–16.
33. Atkins ER, Panegyres PK. The clinical utility of gene testing for Alzheimer's disease. Neurology International 2011;3:e1.

ZDRAVLJENJE ALZHEIMERJEVE BOLEZNI

TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

AVTORJI / AUTHORS:
Andreja Emeršič, mag. farm.[1,2];
prof. dr. Zvezdan Pirtošek, dr. med., spec.[1];
dr. Mateja Štempelj, univ.dipl. kem.[2];
prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm.[3]

[1] *Laboratorij za kognitvno nevroznanost, Klinični oddelek za bolezni živčevja, Nevrološka klinika, Univerzitetni klinični center, Zaloška 2, 1000 Ljubljana*
[2] *Entrapharm d.o.o., Pot k sejmišču 30, 1231 Ljubljana*
[3] *Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: borut.strukelj@ffa.uni-lj.si

POVZETEK
V preglednem članku so predstavljene odobrene zdravilne učinkovine za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni iz skupine zaviralcev holinesteraze ter antagonistov receptorjev NMDA : donepezil, galantamin, rivastigmin, takrin in memantin. V nadaljevanju so prikazane naravne zdravilne učinkovine, ki se uporabljajo predvsem kot prehranska dopolnila. Prav tako so opisane najobetavnejše sintezne učinkovine v razvoju in biološka zdravila, ki so v drugi ali tretji fazi kliničnih raziskav.

KLJUČNE BESEDE:
Alzheimer, zaviralci holinesteraze, EGCG, resveratrol, kurkumin, memantin, monoklonska protitelesa

POVZETEK
Registered drug substances for treatment of Alzheimer's disease are reviewed. They belong to a group of cholinesterase inhibitors (donepezil, rivastigmine, galanthamine, tacrine) or antagonists of NMDA receptors (memantine). Some of most popular dietary supplements, derived from plants or animals are presented as well. In addition, we present the most promising synthetic and biological drug substances in development that undergo phase II or phase III of clinical trials.

KEYWORDS:
Alzheimer, cholinesterase inhibitors, EGCG, resveratrol, curcumin, memantine, monoclonal Abs

UVOD

Alzheimerjeva bolezen je nevrološka motnja, za katero je značilno postopno odmiranje celic v nekaterih predelih možganov (predvsem hipokampusa in asociacijskih predelov možganske skorje), kar povzroči kognitivne in vedenjske spremembe. Klinično se simptomi Alzheimerjeve bolezni med posamezniki nekoliko razlikujejo, tipično pa se kažejo predvsem s sindromo demence, s postopno izgubo srednjeročnega spomina ter zmanjšano sposobnostjo opravljanja vsakodnevnih dejavnosti, dokler ni bolnik popolnoma odvisen od okolice. Najpogosteje se pojavlja pri ljudeh nad 65 let. Ocenjujejo, da je v EU 6.8 milijonov, v Sloveniji pa 22.800 bolnikov z demenco (21), ki predstavlja veliko breme za zdravstveni sistem. Tako naj bi za neporedne in posredne stroške zdravljenja in oskrbe bolnikov z Alzhemierjevo boleznijo v EU porabili čez 100 milijard evrov in v Sloveniji 214.9 milijonov evrov letno, kar uvršča Alzhemimerjevo bolezen med najdražje bolezni (21). Kljub velikemu številu novih bolnikov in nezadržnemu porastu bolezni v razvitem in tudi nerazvitem svetu pa je trenutno na voljo relativno skromna izbira zdravil, ki zmanjšujejo predvsem simptome, medtem, ko o vzroku nastanka bolezni vemo še relativno malo. Poleg sinteznih zdravil imamo na voljo

nekaj naravnih učinkovin, ki se tržijo predvsem kot prehranska dopolnila in zdravila brez recepta, v razvoju pa so novejša selektivnejša sintezna in biološka zdravila (1).

1 SINTEZNA ZDRAVILA

1.1 ZAVIRALCI HOLINESTERAZE

Donepezil

Donepezil je najpogosteje uporabljana zdravilna učinkovina za zdravljenje blage do zmerno napredovale Alzheimerjeve bolezni iz skupine reverzibilnih zaviralcev acetilholinesteraze. Zdravilo podaljša učinek delovanja acetilholina v nevronskih sinapsah. Biološka uporabnost donepezila je skoraj 100 % in z lahkoto prehaja hematoencefalno bariero. Ker je razpolovna doba učinkovine 70 ur, se lahko jemlje le enkrat dnevno v odmerku 5 mg (začetni odmerek), ki se po mesecu dni lahko poveča na 10 mg. Najvišji dnevni odmerek pri napredovani stopnji Alzhemierjeve bolezni je 20 mg. Neželeni učinki so slabost, bruhanje, izguba teka ter povečana motiliteta prebavil. Kontraindiciran je pri kronični obstruktivni pljučni bolezni, astmi, ter pri srčnih aritmijah in akutnih srčnožilnih zapletih (2).

Galantamin

Galantamin je alkaloid, ki so ga prvič odkrili v cvetovih in čebulicah nekaterih vrst zvončkov in narcis iz rodu *Galanthus*, *Leucojum, Lycoris* in *Narcissus*. V sodobno medicino so ga leta 1951 vpeljali ruski zdravniki (3). Prvo industrijsko proizvodnjo iz naravnih rastlinskih virov je leta 1959 razvil dr. Paskov v Bolgariji in zdravilo poimenoval Nivalin. Kasneje so uspeli pripraviti tudi sintezno pridobljeni galantamin. Deluje kot kompetitivni reverzibilni zaviralec holinesteraze, obenem pa je tudi alosterični ligand nikotinskih receptorjev. Biološka uporabnost galantamina je visoka, od 80 % do 100 %, delno se metabolizira v hepatocitih z encimi CYP2D6 in CYP3A4, preko ledvic se ga izloči 95 %, ostalo z blatom. V urinu najdemo 70 % metabolitov galantamina in 30 % metabolno nespremenjenega galantamina. Na voljo je v različnih jakostih od 4 mg do 24 mg. Najpogostejši neželeni učinki so gastrointestinalnega tipa, predvsem nauzeja, bruhanje in izguba teka (4).

Rivastigmin

Rivastigmin je polsintezni derivat fizostigmina, ki so ga v devetdesetih letih razvili na univerzi Hebrew v Jeruzalemu. Deluje kot zaviralec tako butirilholinesteraze kot tudi acetilholinesteraze. Metabolizira se preko jeter s psevdoholinesterazo in izloča v urin. Trži se v obliki peroralnih trdnih ali tekočih pripravkov, leta 2007 pa so razvili tudi transdermalno obliko obliža. Do sedaj so zdravili že več kot 7 milijonov bolnikov z blago do srednje napredovalo obliko Alzheimerjeve bolezni. Učinkovitost rivastigmina je primerljiva z donepezilom in takrinom. Najpogostejši neželeni učinek je nauzeja in bruhanje. V študiji, ki je zajela 1195 bolnikov, so primerjali peroralne odmerke rivastigmina (12 mg na dan) s transdermalnim obližem (9,5 mg na dan) ter ugotovili, da oba odmerka omogočata primerljiv farmakološki učinek, neželenih gastrointestinalnih motenj pa je pri transdermalnem odmerku le tretjino v primerjavi s skupino, ki je uživala peroralno obliko rivastigmina (5).

Takrin

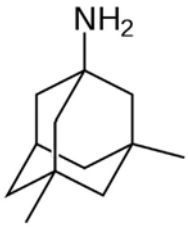
Takrin je najstarejši centralno delujoč zaviralec holinesteraz, ki je dobil dovoljenje za promet za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni. Prvi ga je sintetiziral kot intravenski antiseptik dr. Adrien Albert iz Univerze v Sydneyu (22), o učinkih pri bolnikih z demenco Alzheimerjevega tipa pa je v svojih kontroverznih delih poročal Summers (23).
Deluje tudi kot zaviralec histaminske N-metiltransferaze. Zaradi relativno šibkega učinka, predvsem pa zaradi možnosti jetrne okvare, so ga v novejšem času zamenjali drugi zaviralci holinesteraze, predvsem donepezil. Peroralno izkazuje od 3 % do 35 % biološko uporabnost, metabolizira se z encimom CYP1A2 in izloči z urinom. Najbolj izraženi neželeni učinki so nauzea, salivacija in bruhanje, redek, a nevaren stranski učinek pa je hepatotoksičnost (6). V Sloveniji takrina ni na razpolago.

1.2 ANTAGONISTI RECEPTORJEV NMDA

Memantin

Memantin uvrščamo v novejšo skupino zdravil proti Alzheimerjevi bolezni, ki delujejo kot antagonisti glutaminskih receptorjev NMDA tipa. Glutaminska kislina je pomemben biološki prenašalec signalov v nevronih, a zelo pomembna je njena optimalna koncentracija. Tako premalo, kot preveč glutamata zmanjšuje fiziološko optimalno delovanje nevronov preko privzema kalcijevih ionov. Premočno vzdraženje receptorjev NMDA vodi do prevelike koncentracije kalcijevih ionov v nevronih, kar posledično aktivira apoptozo. Memantin je nekompetitivni antagonist receptorjev NMDA kakor tudi receptorjev 5-HT3. Memantin so sintetizirali že leta 1968 v laboratorijih Eli Lilly in tri desetletja kasneje pridobili dovoljenje za promet za zdravljenje srednje do mo-

čneje izražene Alzheimerjeve bolezni. Memantin poveča stopnjo koncentracije, spomina in zmožnost opravljanja osnovnih nalog. V dnevnem odmerku 10 mg, skupaj z donepezilom rahlo zmanjša napredovanje srednje do močno izražene Alzheimerjeve bolezni. Glede neželenih učinkov memantina se bolniki največkrat pritožujejo nad glavobolom, zaprtostjo in zmedenostjo (7).



Slika 1: Kemijska struktura memantina
Figure 1: Chemical structure of memantine

ALI STE VEDELI?

- da je po podatkih Ameriške zveze bolnikov z Alzheimerjevo boleznijo na svetu približno 28 milijonov evidentiranih bolnikov in da bo leta 2050 po predvidevanjih bolnikov že okoli 50 milijonov?
- da v ZDA za neposredne stroške zdravljenja enega bolnika porabijo 16.000 dolarjev letno, v Evropi 8500 dolarjev, v Aziji pa le 400 dolarjev letno?
- da postaja Alzheimerjeva bolezen s 100 milijardami dolarjev vseh stroškov letno samo v ZDA, najdražja bolezen v razvitem svetu?

Preglednica 1: Odobrene zdravilne učinkovine in njihovi neželeni učinki
Table 1: Registered drug substances and their side effects

Učinkovina	Odobrena za tip bolezni	Neželeni učinki
donepezil	vse stopnje	slabost, bruhanje, izguba teka in hitrejša motiliteta črevesja
galantamin	blaga do srednje napredovana AB	slabost , bruhanje, izguba teka
rivastigmin	blaga do srednje napredovana AB	slabost , bruhanje, izguba teka
takrin	blaga do srednje napredovana AB	možna poškodba jetrnih celic, slabost, bruhanje
memantin	srednje do močno napredovana AB	glavobol, zaprtje, zmedenost

2 ZDRAVILA NARAVNEGA IZVORA

Vitamin E

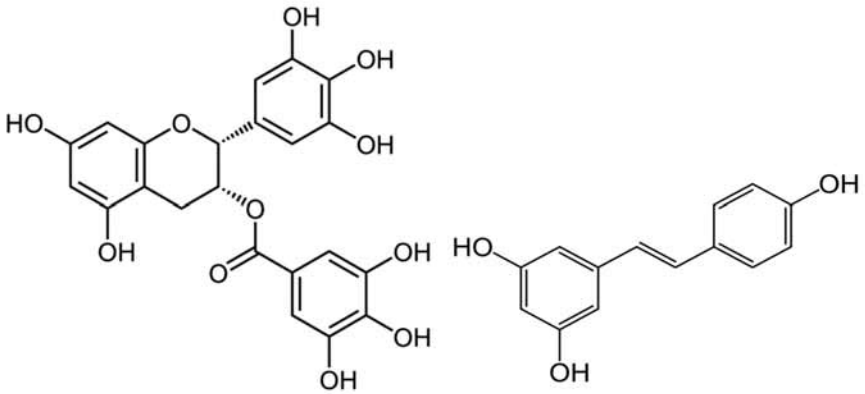
O uporabi vitamina E pri preprečevanju napredovanja Alzheimerjeve bolezni obstaja kontroverzno strokovno mnenje. Le ena klinična študija, kjer so bolniki uživali 2000 IU enot vitamina E na dan, je pokazala nekoliko daljšo fazo počasnejšega napredovanja bolezni in kasnejšo potrebo po oskrbi, a na upad kognitivnih sposobnosti jemanje vitamina E ni imelo učinka. Celo več, v pregledni študiji Cochrane so ugotovili, da dnevni odmerki vitamina E v jakosti 400 mg skozi daljši čas (ne le pri bolnikih z Alzheimerjevo boleznijo, ampak pri vseh v študijo zajetih preizkušancih) celo zmanjšajo življenjsko dobo (8), zato vitamina E kot dopolnilno zdravljenje pri Alzheimerjevi bolezni ne priporočajo.

Izvleček iz ginkga

Izvleček iz listov ginkga (Ginkgo biloba) že desetletja uporabljajo za izboljšanje spomina in sposobnosti učenja, verjetno zaradi izboljšanja mikrocirkulacije. Kljub nekaj kliničnim študijam, je v primeru raziskav izvlečka ginka pri Alzheimerjevi bolezni delovanje še vedno vprašljivo. V eni od študij, ki je vključevala 236 bolnikov z blago do zmerno obliko Alzheimerjeve bolezni, so ugotovili statistično značilno izboljšanje opravljanje vsakodnevnih dejavnosti kakor tudi kognitivne sposobnosti (9). V obsežni klinični študiji, objavljeni nedavno v eni od najbolj znanstveno prestižnih revij Lancet Neurology so v študijo, ki je trajala poltretje leto, vključili 2854 bolnikov. Izvedli so randomizirano, dvojno slepo študijo in prišli do zaključka, da dolgoročno standardizirani izvleček iz listov ginkga ne zmanjšuje napredovanja Alzheimerjeve bolezni (10).

Epigalokatehin galat (EGCG) in resveratrol

Epigalokatehingalat (EGCG) je najpomembnejši katehin, najden v listih zelenega čaja (*Camellia sinensis L.*). Farmakološki učinki tega močnega antioksidanta so bili preučevani v številnih znanstvenih raziskavah. Poleg antiangiogenega in protitumornega delovanja izraža EGCG tudi imunomodulatorno delovanje, zmanjšal pa naj bi tudi nastanek toksičnih amiloidnih oligomerov, ki so eden od poglavitnih patoloških dejavnikov nastanka Alzheimerjeve bolezni. Tudi resveratrol, kot antioksidant, izoliran iz lupinic rdečega grozdja (*Vitis vinifera L.*), izkazuje podobne farmakološke učinke. Podobnost strukturnih elementov obeh spojin je prikazana na sliki 2.



Slika 2: Kemijski strukturi (-)-epigalokatehingalata in resveratrola
Figure 2: Chemical structures of (-)-epigallocatechingallate and resveratrol

Raziskovalci iz Univerze Leeds so v letošnjem letu potrdili predhodna opažanja drugih raziskovalcev in ugotovili, da tako EGCG kot tudi resveratrol remodelirata fibrilarno konformacijo amiloidnih oligomerov, kar vodi do nastanka nefibrilarnih oligomerov amiloidnega proteina, ki bistveno manj poškodujejo možganske celice (12, 13).

DHA

Dokozaheksaenojska kislina (DHA) se nahaja v ribjem olju, kjer jo je od 5 % do 10 %. Nastaja pravzaprav v algah, od koder se preko prehranske verige kopiči v ribah. DHA je najpogostejša nenasičena omega-3 maščobna kislina v možganih človeka, saj predstavlja kar 40% vseh nenasičenih maščobnih kislin, v retini pa je zastopana celo do 60%. Je osnovna sestavina nevronske plazemske membrane. V randomizirani, dvojno slepi, s placebom nadzorovani študiji, ki so jo izvedli raziskovalci Univerze Karolinska s 174 bolniki z Alzheimerjevo boleznijo so ugotovili, da DHA v dnevnem odmerku 1,7 g dnevno bistveno ne zmanjšuje napredovanja Alzheimerjeve bolezni, razen pri podskupini bolnikov z zgodnjo fazo Alzheimerjeve bolezni (14). Podobne rezultate so dobili tudi raziskovalci v obširni klinični študiji, objavljeni v reviji JAMA (15), zato menimo, da je dodatek ribjega olja, kjer je poleg DHA še eikozapentaenojska kislina (EPA), koristen v začetni fazi Alzheimerjeve bolezni oziroma kot preventiva .

Kurkumin

Kurkumin je učinkovina, ki se nahaja v koreniki kurkume (Curcuma longa, Zingibeaceae). Vsebnost kurkumina v posušeni koreniki je različna, od 4 do 6,8 %. Prah kurkume se, pomešan z drugimi začimbami, že tisočletja dolgo uporablja v indijski in tajski kuhinji, kot naravno zdravilo pa je zelo cenjen v komplementarni medicini Ayurveda. Kurkuminu pripisujejo protivnetno delovanje in preventivno delovanju pri preprečevanju razvoja raka debelega črevesja. Več primerjalnih študij kaže na manjšo pojavnost Alzheimierjeve bolezni v Indiji, kjer so zasledili 4,4 krat manj bolezni v skupini starostnikov od 70 do 79 let, kot v enaki starostni skupini v ZDA. Ugotovili so, da so starostniki, ki redno ali vsaj občasno uživajo kurkumo v obliki curry omak, značilno bolje izpolnili test MMSE od tistih, ki kurkume nikoli ne uživajo. O delovanju kurkumina je postavljeno več hipotez.Tako naj bi kurkumin aktiviral makrofage, ki hitreje in v večji meri odstranjujejo amiloidne plake. Prav tako naj bi zmanjševal vnetne procese v povezavi s celicami glia in deloval sistemsko protivnetno z zaviranjem ciklooksigenaze COX-2 ter z zmanjšanjem izražanja provnetnih citokinov (11).

3 UČINKOVINE V RAZVOJU

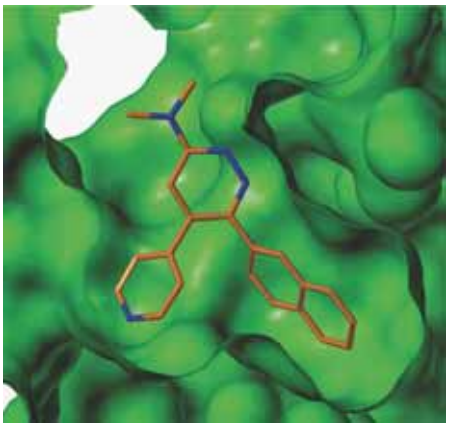
Nitromemantin

Glede na veliko število bolnikov z Alzheimerjevo boleznijo v svetovnem merilu imamo pravzaprav trenutno na razpolago relativno malo učinkovin, pa še te so bile uvedene v zdravljenje že pred leti, zato raziskovalci intenzivno iščejo nove učinkovine sinteznega in naravnega izvora, ki bi bile bolj učinkovite pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni. Tako so raziskovalci iz Instituta Sanford-Burnham Medical Research pripravili nitromemantin, ki je pravzaprav z nitro skupino nadgrajena molekula memantina. Po devetih letih raziskav so ugotovili, da se po nekajtedenskem vnosu nitromemantina ponovno aktivirajo sinapse, kar vodi do prevodnosti nevronov. Gre za enak molekularni mehanizem delovanja, ki ga je odkrila ta skupina raziskovalcev že pri memantinu in na osnovi katerega je leta 2003 FDA odobrila registracijo učinkovine. Nitromemantin še učinkoviteje uravnava nivo glutaminske kisline (glutamata) in deluje kot an-

tagonist glutamatnih receptorjev N-metil-D-aspartatnega tipa (NMDA receptorjev). Trenutno poteka faza I klinične študije, v pripravi pa je intenzivna klinična študija delovanja nitromemantina tako pri blagi, kot tudi pri napredovali Alzheimerjevi bolezni (16).

MW108

MW108, kemijsko N, N-dimetil-6-(naftalen-2-il)-5-(piridin-4-il) piridazin-3-amin, je nedavno sintetizirana spojina, ki deluje kot zaviralec p38 α MAPK kinaze. V juniju 2013 je skupina raziskovalcev pod vodstvom L.J. Van Eldika objavila rezultat dveletne raziskave v reviji PLOS One, kjer ugotavljajo, da z zaviranjem delovanja omenjenega encima lahko ponovno vzpostavijo osnovno delovanje sinaps in s tem zmanjšajo napredovanje kognitivnih disfunkcij pri Alzheimerjevi bolezni (17). MW108 je le ena od serije nizkomolekularnih sinteznih molekul, ki jih je raziskovalna skupina sintetizirala. Na sliki 3 je vidna kristalna struktura združka med zaviralcem MW108 in encimom p38 α MAPK kinazo. Trenutno izvajajo predklinične toksikološke raziskave, ki so vzpodbudne, zato se je Univerza Northwestern iz Chicaga, od koder izhaja omenjena skupina raziskovalcev, povezala s farmacevtsko industrijo za nadaljevanje raziskav na kliničnem nivoju.



Slika 3: Kristalna struktura združka med molekulo MW108 in aktivnim mestom encima p38 α MAPK kinaze (slika iz publikacije 11, odprt dostop).
Figure 3: Christal structure of complex between the MW108 molecule and active site of p38 α MAPK kinase (figure from pulication 11, open access).

Monoklonska protitelesa proti beta amiloidu

Kljub nejasnemu izvoru nastanka bolezni sta trenutno dve proteinski molekuli »okrivljeni« za napredovanje Alzheimerjeve bolezni : beta amiloid in protein Tau. Z razvojem rekombinantnih proteinskih zdravilnih učinkovin se tako v zadnjem desetletju razvijata dve vrsti bioloških zdravil proti Alzhemierjevi bolezni: vnos dela amiloidnega proteina ali proteina Tau kot antigena, s čemer sprožimo aktivno imunizacijo ter vnos monoklonskih protiteles proti različnim delom amiloida. Aktivna imunizacija z vnosom antigenov se je sicer v živalskih modelih izkazala kot uspešna, a so zaradi nastanka meningoencefalitisa, ki se je pojavil pri 6 % preizkušancev, eksperimentalno zdravilo AN1792 umaknili iz nadaljnih kliničnih študij. Trenutno nekaj inovativnih farmacevtskih družb razvija monoklonska protitelesa proti različnim delom beta amiloida. V fazi III kliničnega razvoja sta humanizirani monoklonski protitelesi bapinezumab in solanezumab, ki sta usmerjeni proti N terminalnemu in sredinskemu delu beta amiloida ter monoklonsko protitelo PF-04360365, usmerjen proti karboksilnemu delu amiloida beta (peptida 1-40). Nedavno se je skupini monoklonskih protiteles pridružil še gantenerumab, ki je prvo humano monoklonsko protitelo, prav tako usmerjeno proti beta amiloidu. V zgodnji fazi kliničnih preizkušanj so še fasinumab, fulranumab, atinumab, crenezumab, ozanezumab, ponezumab in tanezumab. Prva zdravila, ki bodo pridobila dovoljenje za promet iz skupine bioloških zdravil pričakujemo v začetku leta 2014. Glede na mehanizem delovanja pa si tudi od trenutno razvijajočih bioloških zdravil popolne ozdravitve ne moremo obetati, saj najnovejši izsledki bazične nevromedicine kažejo na to, da zmanjšanje nastanka beta amiloidnih plakov bistveno ne vpliva na preprečitev upadanja kognitivnih, funkcijskih in vedenjskih sposobnosti in vzorcev (18,19,20).

LITERATURA

1. *Kogoj A, Žmuc-Veranič L. Dileme pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni. Zdrav vestn 2006; 75: 469-74*
2. *Rojas-Fernandez CH. Successful use of donepezil for the treatment of dementia with Lewy bodies . Ann Pharmacother , 2001; 35:202-205.*
3. *Mashkovsky MD, Kruglikova-Lvova RP. On the pharmacology of a new alkaloid galantamine. Farmakologia Toxicologia 1951; 14:27-30.*
4. *Scott LJ, Goa KL. Galantamine: a review of its use in Alzheimer's disease. Drugs 2000; 60:1095-1122.*
5. *Finkel SI. Effects of rivastigmine on behavioral and psychological symptoms of dementia in Alzhemier's disease. Clin Ther 2004; 26:980-990.*
6. *Qizilbash N, Whitehead A, Higgins J et al. Cholinesterase inhibition for Alzheimer's disease: a meta-analysis of the tacrine trials. JAMA 1998; 280:1777-1782.*
7. *Johansson C, Ballard C, Hansson O, et al. Efficacy of memantine in PDD and DLB: an extension study including*

washout and open-label tretament. Int J Geriat Psych 2011; 26: 206-213.
8. *Miller ER, Pastor-Barriuso R, Dallal D et al. Meta Analysis: High dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. Annals of Internal Medicine 2005; 142:37-46.*
9. *Mlinarič A, Doljak B. Centralni živčni sistem. V knjigi: Sodobna fitoterapija (Samo Kreft, Nina Hočevar Glavač, ur). Slovensko farmacevtsko društvo, 2013. 30-70.*
10. *Vellas B, Coley N, Ousset PJ et al. Long-term use of standardised Ginkgo biloba extract for the prevention of Alzheimer's disease: a randomised placebo-controlled trial. Lancet Neurology 2012; 11: 851-859.*
11. *Mishra S, Paslanivelu K . The effect of curcumin on Alzheimer's disease: an overview. Ann Indian Acad Neurol 2008; 11: 13-19.*
12. *Rushworth JV, Griffiths HH, Watt NT et al. Prion protein-mediated toxicity of amyloid-beta oligomers requires lipid rafts and the transmembrane LRP1. J Biol Chem 2013; 288:8935-8951.*
13. *Bieschke J, Russ J, Friedrich RP e t al. EGCG remodels mature alpha-synuclein and amyloid –beta fibrils and reduces cellular toxicity. Proc Natl Acad sci USA 107, 7710-7715.*
14. *Freund-Levi Y, Eriksdotter-Jonhagen M, Cederholm T et al. Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderate Alzheimer disease: OmegAD study: a randomized double-blind trial. Arch Neurol 2006; 63:1402-1408.*
15. *Quinn JF, Raman R, Thomas RG e t al. Docosahexaenoic Acid Supplementation and Cognitive Decline in Alzheimer Disease. JAMA 210; 304: 1903-1911.*
16. *Talantova M, Sanz-Blasco S, Zhang X e t al. Aβ induces astrocytic glutamate release, extrasynaptic NMDA receptor activation, and synaptic loss. Proc Natl Acad Sci U SA 2013;110:2518-27.*
17. *Watterson DM, Grum-Tokars VL, Roy SM e tal. Development of novel in vivo probes to address CNS protein kinase involvement in synaptic dysfunction. PloS One, 2013; 8: e66226 (v tisku)*
18. *Panza F., Frisardi V, Imbimbo BP e tal. Bapinezumab: anti – beta-amiloid monoclonal antibodies for the treatment of Alzheimer's disease. Immunotherapy 2010; 2: 767-782.*
19. *Delrieu J, Ousset PJ, Vellas B . Gantenerumab for the treatment of Alzheimer's disease. Expert Opin Biol Ther 2012; 12, 1077-1086.*
20. *Panza F., Frisardi V., Solfrizzi V e tal. Immunotherapy for Alzheimer's disease: from anti-beta-amyloid to tau-based immunization strategies. Immunotherapy 2012; 4:213-238.*
21. *Bon J, Koritnik B, Bresjanac, et al. Stroški možganskih bolezni v Sloveniji v letu 2010. Zdr Vestn 2013; 82: 164-175.*
22. *Albert A. The Acridines: Their Preparation, Physical, Chemical, and Biological Properties and Uses. London, Edward Arnold & Co, 1951.*
23. *Summers WK, Viesselman JO, Marsh GM, Candelora K. Use of THA in treatment of Alzheimer-like dementia. Biological Psychiatry 1981;16:95-98.*

SOCIALNO IN EKONOMSKO BREME ALZHEIMERJEVE BOLEZNI

ALZHEIMER DISEASE: SOCIAL AND ECONOMIC BURDEN

AVTOR / AUTHOR:
Zvezdan Pirtošek

Laboratorij za kognitivno nevroznanost,
Klinični oddelek za bolezni živčevja,
Nevrološka klinika, Univerzitetni klinični center,
Zaloška 2, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: zvezdan.pirtosek@kclj.si

POVZETEK
Sodobna družba se hitro stara in prevalenca Alzheimerjeve demence strmo narašča. V članku je opisano zdravstveno, emocionalno, finančno, ekonomsko in socialno breme te bolezni. Očrtane so potrebne aktivnosti zdravstvenega, raziskovalnega, socialnega in pravosodnega področja in poudarjen tudi humanistični vidik skrbi za starejše in možgansko bolne.

KLJUČNE BESEDE:
Alzheimerjeva bolezen, breme, družba, skrbniki

ABSTRACT
Modern society is aging rapidly and prevalence of Alzheimer's disease is on a steep rise. In the article the health, emotional, financial, economic and social burdens of the disease are outlined and much needed activities of health, research, social and legal systems proposed. Humanistic aspect of care for aged and those affected with brain diseases is emphasized.

KLJUČNE BESEDE:
Alzheimer's disease, burden, society, carers

1 STO LET: OD NEJEVERE DO EPIDEMIJE

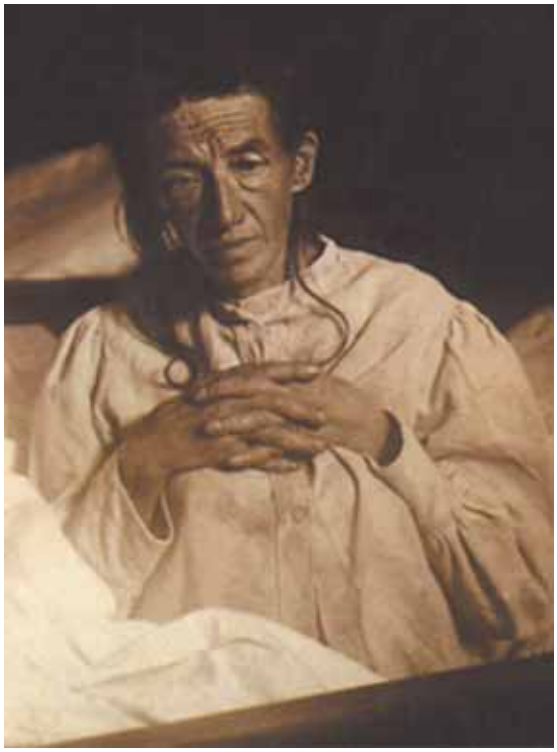
Ko je Alois Alzheimer pred dobrimi sto leti opisal prvo bolnico (Auguste D, slika1) z boleznijo, ki jo danes poznamo eponimsko kot Alzheimerjevo bolezen (1), je naletel na nejevero in čudenje svojih kolegov – taka bolezen, če že obstaja, je verjetno zelo redka. Svoj opis je le s težavo objavil v strokovni literaturi. Več je bilo razlogov za dvom medicinske stroke; eden najpomembnejših je bila relativno nizka pričakovana povprečna življenjska doba – tako za leto 1900 statistika ZDA beleži, da je moški povprečno živel 46.3 let, ženska pa 48.3 let. To so leta, ko Alzheimerjevo bolezen le redko vidimo. Prevladujoč medicinski problem so bile nalezljive bolezni. Danes, dobrih sto let kasneje, je po v letu 2011 objavljenih podatkih Svetovne zdravstvene organizacije povprečna življenjska doba za Američana 76 let in za Američanko 81 let (za Slovenca 77 let in za Slovenko 83 let) (2). Prebivalstvo se nezadržno stara, zato je pričakovati tudi porast pojavnosti degenerativnih bolezni možganov, zlasti Alzheimerjeve bolezni. EU in ZDA sta se že prebudili, zavedata se, da so demence z vidika sodobne družbe največja tempirana bomba in sta problemu prilagodili zdravstveno, socialno in raziskovalno politiko. Ob katerikoli somatski bolezni ima človek lahko zelo kakovostno starost, če lahko razmišlja, se spominja, upa. Demenca pa, kljub morebiti sijajnemu telesnemu zdravju, bolniku, njegovim bližnjim, pa tudi celotni družbi povzroči globoko tragedijo.

Danes je v Sloveniji približno 22.800 bolnikov z AB (3), demografske projekcije pa napovedujejo, da jih bo leta 2050 trikrat toliko. Po 60. letu zboli odstotek do dva ljudi, prevalenca pa se na vsakih pet let podvoji in med starejšimi od 80 let ima bolezen že vsak tretji. Zaradi izrazitega staranja

prebivalstva, demenca in druge bolezni možganov že postajajo vodilni nacionalni zdravstveni problem tako za Slovenijo kot za ves razviti svet. A problem bolnikov z Alzheimerjevo boleznijo ni samo zdravstveni in ne odraža zgolj trpljenja bolnikov: ob bolniku je prizadeta cela družina, tako emocionalno kot finančno, prizadeta je cela družba, tako psihološko, socialno kot ekonomsko.

Breme za bolnika se v najbolj zgodnji fazi bolezni kaže kot zaskrbljenost, anksioznost, depresija in skrb. Kasneje, ko spominske motnje postanejo bolj izrazite, mora bolnik – če je še zaposlen – skrajšati delovni čas oz. zapustiti delovno mesto. Družinski prihodki se zmanjšajo, kar je posebej boleče, če so otroci še doma in nepreskrbljeni ali če partner ne dela. Bolniku je vse težje dobiti zavarovanje in dostikrat je nemočen pri pridobivanju dodatkov in pomoči.

Breme za družino in skrbnike: če na začetku bolezen bremeni bolj bolnika, pa z razvojem bolezni vse več bremena pada na bližnje. Bolnik lahko niha med hudo vznemirjenostjo in agresivnostjo, češ da ga okolje ne razume, drugič zapade v pretirano veselje. A sčasoma, iz dneva v dan bolj, izgublja spomin, ne spozna tudi najbližjih, svet se mu oži, dokler ne izgubi vseh stikov. Včasih otopelo sedi, drugič obtožuje svoje domače, da so ga okradli. Dostikrat tava, podnevi in ponoči, izgublja se, postaja inkontinenten in zanj je potrebno skrbeti in ga nadzorovati večji del dneva in včasih tudi noči. Drsi v popolno pozabo, ki zdaj postaja blago darilo bolezni, svojci pa se morajo soočiti z dejstvom, da se je začelo dolgo, počasno in samotno odhajanje in da niso več del bolnikovega življenja. To je zanje zelo boleče. Svojci v tej fazi potrebujejo veliko empatične psihološke podpore. Ko bolezen napreduje, je svojec, ki je pogosto tudi sam ostarel, psihično in fizično izčrpan. Začne izgorevati pod težo bremena in pogosto tudi sam zboli. Če partner ne zmore skrbeti za obolelega, morajo otroci oz. bližnji sorodniki jemati dopust, bolniške odsotnosti, se zaposlovati za skrajšani delovni čas, plačevati oskrbo in pomoč na bolnikovem domu ali pa bolnika namestiti v dom starejših. Po ocenah iz leta 2011 je bilo v slovenskih domovih za starejše okrog 30% bolnikov z demenco v različnih stadijih, se je pa na žalost z recesijo, zaostreno zakonodajo in dvigom cen v domovih to število v zadnjem času zanesljivo znižalo. Bolnike z demenco lahko sprejmejo vsi domovi za starejše, posebne oddelke za bolnike z demenco ima 72% domov, okoli 10% domov pa uporablja tudi sodoben model stanovanjskih skupin. Tako ostaja žalostno dejstvo in posebej tragičen podatek, da pri demencah levji delež stroškov predstavljajo t.i. posredni nemedicinski stroški, z drugimi besedami – breme te bolezni država lahkotno prevali na družino in na dostikrat ostarelega, depresivnega in



Slika 1: Auguste D, prva diagnosticirana bolnica z Alzheimerjevo boleznijo
Figure 1: Auguste D, first diagnosticed patient with Alzheimer disease

bolnega zakonca. Po podatkih danske študije (4) na tipični dan za neformalno oskrbo primarni skrbniki porabijo 4.97-6.91 ur in razpon dnevnih stroškov primarnih skrbnikov je med 160 and 223 evrov.

Breme za družbo: že nesposobnost bolnika z možgansko boleznijo za delo prizadene tudi širšo družbo, prav tako tudi zgodnje upokojitve ali skrajšani delovni časi skrbnikov, ki so z dela zaradi oskrbe pogosto odsotni. Kasneje se tem stroškom pridružijo tudi visoki stroški zdravstvene oskrbe. V Evropski uniji so tako leta 2010 za zdravljenje bolezni možganov porabili 798 milijard evrov, kar je več kot za srčnožilne in onkološke bolezni skupaj. Čeprav je Slovenija pod evropskim povprečjem, pa so skupni stroški za zdravljenje možganskih bolezni za leto 2010 vseeno ocenjeni na nekaj manj kot 2,5 milijarde evrov, kar predstavlja sedem odstotkov slovenskega BDP-ja. Od tega je razrez skupnih stroškov po bolezenskih skupinah za Slovenijo v letu 2010 za demence razkril vsoto 214,9 milijonov evrov; za bolnike z demenco zavarovalnice odštejejo več kot trikratno vsoto v primerjavi s starostnikom brez demence.

2 KAJ JE POTREBNO STORITI

Predvsem se kot družba moramo seznaniti z različnimi obrazi Alzheimerjeve bolezni, se boriti proti stigmi in brezupu na eni in proti podcenjevanju znakov in bremena bolezni na drugi strani. Danes medicina o mehanizmu Alzheimerjeve bolezni ve zelo veliko, predklinično stopnjo bolezni pa s pomočjo slikanja in pregleda možganske tekočine lahko odkrije že leta in desetletja pred nastopom prvih znakov. Diagnozo moramo postavili v čim zgodnejši fazi in pravočasno določiti način zdravljenja, danes simptomatskega in jutri nevroprotektivnega. Zgodnje zdravljenje izboljša kvaliteto življenja bolnika z demenco, zmanjša breme svojcev bolnika z demenco, lahko odloži in zmanjša stroške zdravstvene in celostne obravnave bolnika z demenco.

Do zgodnje diagnoze in obzirne informacije, tudi v smislu prognoze, ima bolnik pravico ne glede na to, da pravega nevroprotektivnega zdravljenja še ne poznamo: če ve, da ima Alzheimerjevo bolezen, se prizadeti še pred poslabšanjem lahko pripravi, ustrezno načrtuje svoje življenje in urejuje družinske, finančne in legalne stvari, dokler je še mogoče.

Na dramatično naraščanje števila bolnikov z Alzheimerjevo boleznijo se mora pripraviti celotna družba, zlasti pa zdravstvena, raziskovalna, socialna in pravosodna politika. Zdravstvo tako z ustreznim izobraževanjem zdravnikov in drugih strokovnjakov, kot z ustrezno organizacijo obravnave dementnih na nivoju splošne in družinske medicine, ustanavljanjem lokalnih 'spominskih klinik' (angl. memory clinic) kot tudi z uvajanjem sodobne diagnostike v terciarnih nevroloških in psihiatričnih centrih. Po vzoru EU in ZDA je tudi v Sloveniji potrebno več sredstev vložiti v raziskave. Žalostno je, da je raziskavam možganov in obravnavi bolezni možganov namenjeno le malo sredstev, neprimerno manj kot drugim boleznim. Zaskrbljujoče je, da se od raziskav demenc tiho odmika tudi farmacevtska industrija – preveč je treba vlagati, študije predolgo trajajo, administrativnih omejitev je preveč. Lani je – razveseljivo – potekalo kar 1700 velikih in ustrezno načrtovanih študij na svetu v fazi II odkrivanja zdravila za raka, za odkrivanje zdravila za Alzheimerjevo bolezen pa le -17! Koliko bolj donosno je vlagati sredstva denimo v viagro ali še eno zdravilo za glavobol, da o kozmetiki ne govorimo, kot pa v iskanje učinkovin za preprečitev ali zdravljenje demence. Eden izmed ključnih ciljev v prihodnje je zato ustaviti trend umikanja farmacevtske industrije s področja raziskav možganskih bolezni.

Socialna stroka mora vzpodbuditi vključevanje dementnih v okolje (lep primer takega vključevanja so t.i. kavarne Alzheimer (Alzheimer Café) v več slovenskih krajih; izobraževati laike, ki prihajajo v stik z bolniki (prodajalke, miličniki); kasneje, ko bolezen napreduje, pa zagotoviti različne oblike pomoči in nege na domu oz. vzpodbuditi organizacijo posebnih oddelkov v okviru domov za starejše in uvajati bolnikom namenjene ustrezne modele stanovanjskih skupnosti. Potrebno se je zavedati, da bolnik prehaja skozi različne stopnje bolezni, lahko od blage anksioznosti v prvem letu bolezni do popolnega vegetiranja mnogo let kasneje. Zato mora biti vsaka medicinska, socialna ali psihološka intervencija prilagojena bolniku in stopnji bolezni – govorimo o 'verigi intervencij'.

Pomembna naloga družbe je, da spoštuje in ščiti dostojanstvo bolnika; provosodje mora izdelati mehanizme za hitro odkrivanje in preprečevanje zlorab in izkoriščanja dementnih bolnikov, ki je razširjeno bolj, kot si predstavljamo ali priznamo. Vse te naloge bi družba najlažje izpeljala preko nacionalnega akcijskega programa, ki edino lahko ustrezno odgovori na mnogotere izzive, ki jih demenca predstavlja na različnih družbenih ravneh.

Ob naštetih ekonomskih, medicinskih in socialnih izzivih in razlogih za posebno skrb za bolnike z demenco, pa ne pozabimo na najpomembnejši razlog - humanost družbe. Ta se izraža tudi in predvsem kot skrb za otroke, starejše in osebe s psihičnimi in nevrološkimi težavami, povezanimi z boleznimi možganov.

3 LITERATURA:

1. *Alzheimer A. Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozeß der Hirnrinde. Neurologisches Centralblatt 1906; 23: 1129–36.*
2. *United Nations World Population Prospects: 2010 revision.*
3. *Bon J, Koritnik B, Bresjanac M, Repovš G, Pregelj P, Dobnik B, Pirtošek Z. Stroški možganskih bolezni v Sloveniji v letu 2010. Zdrav Vestnik 2013; 82: 164-175.*
4. *Jakobsen M, Poulsen PB, Reiche T, Nissen NP, Gundgaard J. Costs of informal care for people suffering from dementia: evidence from a danish survey. Dement Geriatr Cogn Dis Extra 2011 Jan;1(1):418-28.*

PEPTIDNI AGONISTI RECEPTORJA ZA GLUKAGONU PODOBNI PEPTID-1 TER NJIHOVA UPORABA PRI ZDRAVLJENJU SLADKORNE BOLEZNI TIPA 2 IN DEBELOSTI

GLUCAGON LIKE PEPTIDE-1 RECEPTOR AGONISTS AND THEIR APPLICATION IN TREATMENT OF DIABETES MELLITUS TYPE 2 AND OBESITY

AVTOR / AUTHOR:
Matjaž Deželak, dipl. univ. biol.[1],
prof. dr. Aljoša Bavec, dipl. univ. biol.[2],

[1] *Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000, Ljubljana*
[2] *Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000, Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: aljosa.bavec@mf.uni-lj.si

POVZETEK

Vse od začetkov farmacevtskih, farmakoloških in farmakoterapevtskih znanosti so glavno vlogo igrale majhne molekule, saj so bili kemijska sinteza, čiščenje in dostava na tarčno mesto relativno enostavni, kemijska stabilnost in biološka dostopnost pa relativno visoki. Z napredovanjem tehnologij načrtovanja sinteze, proizvodnje, čiščenja, shranjevanja in dostave do tarčnega mesta se je odprla možnost uporabe večjih polimernih molekul pri zdravljenju obolenj. Takšni so predvsem peptidi in proteini, ki opravljajo najrazličnejše naloge v organizmu. V tem preglednem članku so obravnavana peptidna zdravila na splošno. Sledi opis njihove uporabe, s poudarkom na glukagonu podobnem peptidu-1 (GLP-1), pri zdravljenju sladkorne bolezni tipa 2 in debelosti. Ker peptidna zdravila za zdravljenje teh dveh bolezni uporabljamo relativno malo časa, ima zdravljenje kot tako še nekaj pomanjkljivosti, zato je na koncu predstavljena še možnost razvoja učinkovitejših načinov zdravljenja na temelju naših nedavnih raziskav.

KLJUČNE BESEDE:
peptidne učinkovine, sladkorna bolezen tipa 2, debelost, glukagonu podoben peptid-1, mono-ADP-ribozilacija

ABSTRACT

In the beginnings of pharmaceutical, pharmacological, and pharmacotherapeutical sciences small molecules played the main role as chemical synthesis, purification, and drug delivery and targeting were relatively simple. Moreever, high degree of chemical stability and biological availability both worked in their favour. Later on, technologies for achieving the appropriate degree of above mentioned limiting factors improved, and larger, polymeric molecules became useful. Among them, the most important are peptides and proteins, which have crucial natural role in organism's physiology. This review article discusses peptide drugs in general and it continues with glucagon like peptide-1 (GLP-1) being used for treatment of diabetes mellitus type 2 and obesity. Because of the fact that the peptide drug-based therapy of these two illnesses is relatively new it still has quite some imperfections. That is why directions to achieve a better treatment effi-

cacy – which are based on our latest research – are presented at the end.

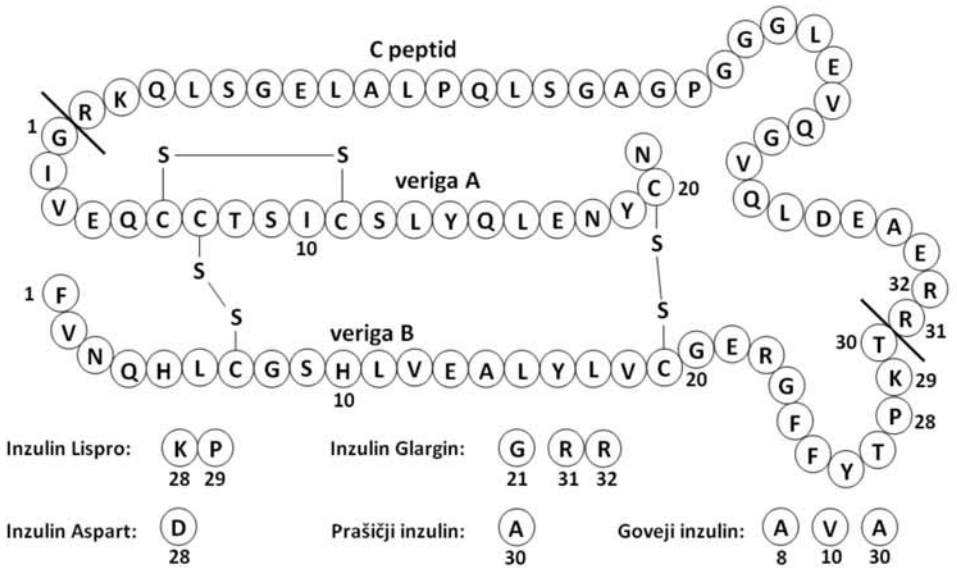
KEYWORDS:
peptide drugs, type 2 diabetes mellitus, obesity, glucagon-like peptide-1, mono-ADP-ribosylation

1 PEPTIDNA ZDRAVILA

Peptidna zdravila so postala prva izbira pri zdravljenju alergij, mikrobnih bolezni, rakavih tvorb, sladkorne bolezni, srčno-žilnih obolenj, debelosti, artritisa in drugih (1). Še posebej v zadnjem desetletju njihova uporaba in popularnost še vedno naraščata, predvsem zaradi napredka v sintezni kemiji, nanotehnologiji, tehnologiji čiščenja in strategijah pri dostavi zdravil (2). Peptidi so sestavljeni iz 2 do 50 aminokislin, ki se v procesu kemijske kondenzacije med seboj povežejo s peptidno vezjo. Od proteinov se razlikujejo le v številu aminokislinskih ostankov. Zgornja meja za peptid je približno 50 aminokislinskih ostankov, poudariti pa je potrebno, da je ta omejitev zgolj arbitrarna saj natančne definicije ni. Kot zdravilne učinkovine uporabljamo naravne peptide, npr. inzulin (slika 1), s tehnologijo rekombinantne DNA spremenjene peptide, npr. inzulin aspart, inzulin lispro in inzulin glargin (slika 1) ter kemijsko spremenjene peptide, npr.heksil-inzulin monokonjugat 2 (Nobex Corp., ZDA).

Najobičajnejše spremembe so dodajanje, odvzemanje ali zamenjava standardnih aminokislin, lahko pa poleg slednjih peptidi vsebujejo še druge aminokisline in/ali imajo kovalentno vezane razne organske spojine oz. funkcionalne skupine (3). V splošnem peptidna zdravila povzročajo manj stranskih učinkov kot nizkomolekularne učinkovine. Njihove prednosti pred ostalimi skupinami zdravil so predvsem visoka aktivnost in specifičnost, visoka učinkovitost, minimalne interakcije zdravilo–zdravilo, nizka raven kopičenja v tkivih in posledično nizka toksičnost, nudijo pa tudi veliko biološko in kemijsko raznolikost (1).

Da pa razvoj in uporaba peptidnih zdravil nista še večja, so v prvi vrsti krive še nerešene pomanjkljivosti, vezane na stabilnost peptidov, ki se kažejo kot kratek razpolovni čas, težavna dostava do mesta delovanja ter zahtevna in draga proizvodnja (1). Obstajata dva glavna načina proizvodnje vsak s svojim naborom prednosti. Metode na osnovi tehnologije rekombinantne DNA so v določenih primerih proizvodnje velikih količin lahko cenovno najugodnejše (4). Biotehnološki postopek je zelo učinkovit tudi pri daljših aminokislinskih zaporedjih npr. 100 in več aminokislinskih ostankov (4). Vendar je lahko razvoj učinkovitega rekombinantnega programa proizvodnje drag in zamuden, pogosto so potrebni kompleksni proizvodni koraki (4). Nasprotno je kemijska sinteza bolj prilagodljiva in ni omejena na uporabo zgolj proteinogenih aminokislin (4). Primerna je za proizvodnjo različnih količin peptidne učinkovine, saj je stroškovno ugodna od ranga velikosti nekaj gramov do več kilogramov (4).



Slika 1: Zgradba človeškega proinzulina in komercialno dostopni inzulinski analogi z navedbo mesta in tipa spremembe glede na naravni inzulin. Inzulin je prikazan kot verigi A in B (5).
Figure 1: Structure of human proinsulin and commercially available insulin analogs. Insulin is shown as the peptide chains, A and B (5).

1.1 MESTO IN NAČIN VNOSA

Mesto in način vnosa sta zelo pomembna dejavnika, saj vplivata tako na kemijsko in fizikalno obliko zdravila kot tudi na sestavo in obliko pomožnih snovi. Peroralni vnos, na primer, pogojuje obliko, ki je stabilna pri različnih vrednostih pH in odporna na proteolizo, medtem ko vnos preko mukoznih membran nosne votline zahteva velikost delcev več µm ter večjo stopnjo lipofilnosti. Intravenski vnos je seveda najbolj učinkovit, saj vnesemo zdravilo neposredno v sistemski krvni obtok, hkrati pa tudi najmanj praktičen in sprejemljiv za bolnika. Možen je za večino zdravil. Problemi pri drugih načinih vnosa peptidnih zdravil so relativno velika molekulska masa, električni naboj, relativna hidrofilna narava (zato oteženo prehajanje skozi membrane) in nestabilnost v okoljih s proteolizno aktivnostjo ter nizkimi in visokimi vrednostmi pH (6). Glavna mesta vnosa zdravila v telo poleg intravenskega so pljuča, sluznice in koža (6).

1.2 CILJANJE (ANG. »TARGETING«)

V ta namen izkoriščamo specifične fizikalne in/ali kemijske značilnosti tkiv oz. organov, kot so prisotnost specifičnih receptorjev, povišan pretok krvi, izbirna prepustnost membran, površinski električni naboj, idr., ali pa si pomagamo z njihovimi svojstvenimi fiziološkimi parametri, kot so na primer nizke in visoke vrednosti pH (6).V določenih primerih, pri katerih (še) ni razvitih načinov za ciljanje, zdravila vnašamo v sistemski krvni obtok, s čimer se nespecifično in bolj ali manj enakomerno razporejajo po celem telesu. S tem je seveda nevarnost stranskih učinkov večja in učinkovitost zdravila manjša. Pri sistemskem vnosu je zelo pomembno doseči čim manjšo odstranitev zdravila iz krvi preko ledvic ter zmanjšati biotransformacijo v jetrih (6, 7). Mnogi peptidi, kot na primer inzulin, že zaradi svoje narave ciljajo specifičen receptor oz. makromolekulo, medtem ko drugi peptidi nisi selektivno specifični oz. se vežejo na celične strukture z manjšo afiniteto. Slednjim lahko z ustreznimi kemijskimi spremembami strukture in/ali tehnikami dostave, s pomočjo katerih jih usmerimo čim bliže mestu delovanja, močno povečamo učinkovitost. Tudi peptide z že obstoječo specifično vezavo lahko naredimo učinkovitejše, če jim afiniteto povečamo (6). Najuporabnejši so trije splošni pristopi: fuzijski kompleks peptida s protitelesom ali delom protitelesa (npr. fuzija peptida z enojno verigo variabilne regije imunoglobulina, scFv), fuzija peptida z drugimi proteini, ki se specifično vežejo z receptorji (npr. fuzija peptida z transformirajočim rastnim faktorjem α, TGFα) in fuzija peptida z ogljikovimi hidrati, ki se vežejo z receptorji, ki prepoznajo specifične monosaharide (npr. fuzija peptida z oligosaharidi, ki vsebujejo manozo) (6).

1.3 IZBOLJŠANJE DOSTAVE IN CILJANJA S FIZIKALNO-KEMIJSKIMI SPREMEMBAMI

Cilj fizikalno-kemijskih sprememb peptidne učinkovine je predvsem zagotovitev minimalne lipofilnosti (za membransko prepustnost) in odpornost proti proteolitičnim encimom (8). Spremenjenim molekulam pravimo predzdravila (če se aktivirajo v organizmu oz. na samem mestu delovanja) ali analogi (če zdravilo učinkuje spremenjeno). Primera uspešne spremembe sta kovalentna vezava hidrofilne polietilen glikolne molekule (9) in lipofilne alkilne verige na β-verigo inzulinske molekule (10, 11). Podjetje Emisphere Technologies testira nove pristope dostave in ciljanja. Z uporabo majhnih hidrofobnih organskih molekul, ki so nekovalentno povezane z makromolekulami lahko dosežemo povečano lipofilnost in izboljšano prepustnost skozi biološke membrane. Majhne hidrofobne molekule se povežejo s peptidom, ki ga prenašajo tako, da reverzibilno spremenijo njegovo sekundarno strukturo. Spremenjena struktura omogoči peptidu, da lažje prehaja skozi membrano. V celici pa se majhna hidrofobna molekula razveže in peptidu se zopet povrne izvorna sekundarna struktura in aktivnost (12). Na zdravilno učinkovino lahko kovalentno vežemo tudi večje molekule oz. makromolekule in polimere. Njihova pomembna lastnost je, da jih prepoznajo endogene sestavine celičnega transporta v prebavnem epitelu, tj. ali membranski transporterji ali receptorji endocitoze (8). Slednji so za peptidna zdravila še posebej zanimivi, saj receptorsko posredovana endocitoza ni omejena z velikostjo privzete molekule (8). Primeri takšnih receptorsko-prepoznanih ligandov so lektini, razni toksini, virusni hemaglutinini, invazini, transferini in nekateri vitamini (13). Posebno zanimivi pa so dostavni peptidi (ang. »cell-penetrating peptides«), ki lahko neinvazivno prehajajo plazmalemo in so pregledno opisani drugje (14).

Peptidno zdravilo lahko tudi obdamo s polimerom ali makromolekulo (torej ne gre za kovalentno vezavo), s čimer ga zaščitimo pred fizikalno-kemijskimi vplivi okolja, pogosto pa tudi pospešimo prehod v epitelne celice (8). Uspešno uporabljeni so polimerni dostavni sistemi na osnovi hidrogelov, nanodelcev, mikrosfer (mikrodelcev) in lipidov (liposomi, mikroemulzije, trdni lipidni delci) (8). Med njimi je vredno izpostaviti nanodelce, ki so najmlajši in trenutno najbolj raziskovani. Nanodelec je vsaka majhna struktura, ki se obnaša kot ena entiteta v smislu transporta in funkcije. Nekaj primerov nanodelcev je zbranih v tabeli 1 (8).

Preglednica 1: Nanodelci kot prenašalci peroralnih peptidnih zdravil (8).
Table 1: Oral nanoparticle drug carrier (8).

Nano-prenašalec	Zdravilo	Velikost [nm]
Poli(izobutilcianokrilat)	Inzulin	220
Hitosan	Inzulin	250-400
S hitosanom obložen lipid	Kalcitonin lososa	537
S hitosanom obložena poli(mlečna-*ko*-glikolična kislina)	Elkatonin	650
Poli(mlečna-*ko*-glikolična kislina)	Kalcitonin lososa	172-315
Poli(*N*-izopropil akrilamid)	Kalcitonin lososa	148-895
Akrilni kopolimeri	Inzulin	200 (pH 2)

2 PEPTIDNA ZDRAVILA PRI ZDRAVLJENJU SLADKORNE BOLEZNI TIPA 2 IN DEBELOSTI

Med sladkorno boleznijo tipa 2 in debelostjo obstaja patogena in epidemiološka povezava, za kar so vsaj delno odgovorni pleiotropni učinki endogenih inkretinskih hormonov (15). Inkretini so skupina gastrointestinalnih hormonov, ki se izločijo iz celic prebavil kot posledica zaužitja hranilnih snovi (15). Odgovorni so za t.i. »inkretinski učinek«, za katerega je značilno mnogo višje izločanje inzulina iz β-celic po peroralni aplikaciji glukoze v primerjavi z intravensko (16). Obema boleznima je skupno nepravilno delovanje inkretinskih hormonov, zato je primerno, da ju obravnavamo skupaj. Najpomembnejša inkretinska hormona sta glukagonu podoben peptid-1 (GLP-1), ki ga izločajo L-celice distalnega dela tankega črevesa in od glukoze odvisen inzulinotropični polipeptid (GIP), ki ga izločajo K-celice proksimalnega dela tankega črevesa. Učinek delovanja obeh hormonov hkrati je z vidika izločanja inzulina pri zdravih ljudeh enak vsoti učinkov delovanja obeh posameznih hormonov (15). Podroben pregled obeh peptidov je objavljen drugje (17).

2.1 DEBELOST

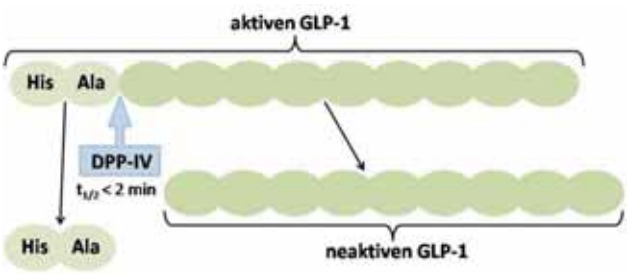
Debelost je značilna težava modernega časa in posredno ali neposredno vpliva na številne zdravstvene probleme, kot so srčno-žilne bolezni, psiho-socialne in psihične motnje, težave s sklepi, apnejo med spanjem in druge (15). Svetovna zdravstvena organizacija debelost definira kot stanje posameznika, ko je njegov indeks telesne mase (ITM) večji od 30,0 kg/m^2. Morda najpomembnejšo vlogo pri uravnavanju telesne mase imajo ravno inkretini (15). Danes je jasno, da ima GLP-1 neposreden (zaviranje poobednega sproščanja glukagona iz α-celic, povečanje poobednega sproščanja inzulina iz β-celic, inhibitoren vpliv na center za apetit v hipotalamusu) in posreden vpliv (zaviranje apetita preko zakasnjenega praznjenja želodčne vsebine) na prehranjevalno obnašanje posameznika (15). Debelost zdravimo predvsem z ne-peptidnimi zdravilnimi učinkovinami, npr. z orlistatom (18) Vendar pa k zmanjšanju prevelike telesne mase prispevajo tudi peptidna zdravila, ki jih primarno uporabljamo za zdravljenje sladkorne bolezni, npr. eksenatid in pramlintid (18).

2.2 SLADKORNA BOLEZEN TIPA 2

Sladkorna bolezen tipa 2 je v razvitem svetu prav tako v porastu. Pri tej bolezni gre za inzulinsko neobčutljivost perifernih tkiv (npr. skeletnih mišic) in moteno izločanje samega inzulina, dejavniki tveganja za razvoj bolezni pa so predvsem debelost, telesno neaktiven način življenja in starost (19). Uveljavljeno zdravljenje izvajamo z dieto, telesno aktivnostjo in farmakološkimi učinkovinami, kot so inzulin, bigvanidi, derivati sulfonil uree in tiazolidindioni (19). Vendar imajo ta zdravila kar nekaj stranskih učinkov, npr. hipoglikemija, porast telesne mase in edem. Pri zdravljenju je po navadi potrebna kombinacija več različnih zdravil hkrati, zato je potreba po novih načinih zdravljenja velika (19). Kot uporabno se je že izkazalo zdravljenje z inkretini, predvsem z GLP-1, saj le-ta stimulira izražanje inzulinskega gena, posredno poveča inzulinsko občutljivost, stimulira proliferacijo obstoječih in zorenje izvornih β-celic ter zavira njihovo apoptozo (20).

2.3 NA GLP-1 OSNOVANO ZDRAVLJENJE DEBELOSTI IN SLADKORNE BOLEZNI TIPA 2

GLP-1 ima pozitivne učinke tako pri zdravljenju debelosti kot tudi sladkorne bolezni tipa 2, vendar njegova uporaba ni učinkovita, saj ga že po eni do dveh minutah (razpolovni čas $t_{1/2}$<2 min) inaktivira encim dipeptidil peptidaza IV (DPP-



Slika 2: Proces z DPP-IV posredovane deaktivacije GLP-1 (18).
Figure 2:The inactivation process of GLP-1 by DPP-IV (18).

IV) (slika 2) (19). Z odcepitvijo histidina in alanina na N-koncu peptida nastane GLP-1(9-36)amid, ki je šibek antagonist za receptor GLP-1 (19). Na GLP-1 temelječe zdravljenje zato poteka z učinkovinami, ki jih delimo v dve skupini: peptidni agonisti receptorja GLP-1, ki niso substrat DPP-IV in inhibitorji DPP-IV (19). Ker inhibitorji DPP-IV niso peptidi, temveč običajno majhne molekule, jih na tem mestu ne bomo obravnavali, podrobneje pa so pregledno opisani drugje (19, 20, 21). Omenimo naj le tri bistvene razlike med tema dvema skupinama: (a) agonisti receptorja GLP-1 vplivajo na zmanjšanje telesne mase, medtem ko so inhibitorji DPP-IV glede tega nevtralni in zato primerni le za zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2 (22); (b) inhibitorji DPP-IV načeloma niso zelo selektivni, inhibirajo lahko tudi DPP-II, DPP-VIII, DPP-IX, prolilendopeptidazo (PEP) in fibroblaste-aktivirajoči protein α (FAP-α) (19); (c) DPP-IV je pleiotropen encim (inaktivacija nekaterih peptidnih hormonov, nevropeptidov in kemokinov, vezava fibronektina in adenozin deaminaze), katerega inhibicija ima lahko stranske učinke, ki pri agonistih receptorja GLP-1 niso mogoči (19).

Pri načrtovanju agonistov receptorja GLP-1 lahko izhajamo iz strukture samega GLP-1 (t.i. analogi GLP-1) ali pa iz eksendina-4 (peptid, izoliran iz žleze slinavke kuščarja *Heloderma suspectum*) (19). Bistvena pogoja, ki ju mora analog oz. peptidomimetik izpolnjevati, je odpornost proti encimskemu delovanju DPP-IV in čim manjše izločanje preko ledvic, pri čemer si pogosto pomagamo z vezavo na albumin (22). Subkutani vnos se izvrši dvakrat (eksanatid) ali enkrat (liraglutid in liksisenatid) na dan oz. enkrat na teden (taspoglutid in albiglutid) (22).

Eksenatid je bil prvi agonist receptorja GLP-1 na tržišču, odobren za klinično uporabo leta 2005. Je sintezen ekvivalent eksendina-4 in kljub temu, da kaže le 53% homologijo z GLP-1 (preglednica 2), se na receptor veže s primerljivo afiniteto (22). Razpolovni čas je občutno daljši (okrog 2 uri) v primerjavi z GLP-1 (1-2 min). Učinkovita terapevtska koncentracija pa se v telesu ohrani od 6 do 8 ur (22), predvsem zaradi zmanjšanega ledvičnega izločanja (19). Neželeni učinki eksenatida, ki se pojavljajo pri približno 40 % bolnikov, so predvsem občutek slabosti in bruhanje (ta dva sčasoma oslabita), nekje v enakem deležu pa bolniki razvijejo protitelesa proti zdravilu (22). Najhujši domnevni stranski učinek pa je akutni pankreatitis, a je vzročno-posledično povezavo težko pripisati zgolj eksenatidu, saj je ta bolezen pri sladkornih bolnikih *per se* trikrat pogostejša (21).

Leta 2009 je sledil liraglutid, ki je za razliko od eksenatida analog GLP-1 (22). Od slednjega se razlikuje po (a) palmitoil acilni verigi, ki je preko γ-glutaminske kisline vezana na lizin 20, (b) po argininu, ki na mestu 28 zamenjuje lizin in (c) po dodanem glicinu na C terminalnem koncu (pregled-

Preglednica 2. Strukture agonistov receptorja GLP-1, ki so na tržišču ali v končnih fazah kliničnih študij. Za primerjavo je prikazano aminokislinsko zaporedje nativnega GLP-1 (22).
Table 2. Structures of the GLP-1 receptor agonists that are in the market or in very late clinical development. For comparison the amino acid sequence of native GLP-1 is also shown (22).

Peptid	Struktura	EC_{50} (nM)
GLP-1	HAEGTPTSDVSSYLEGQAAKEPIAWLVKGR	1,0
Liraglutid	HAEGTPTSDVSSYLEGQAAKEPIAWLVRGRG | E–C16 maščobnakislina	*
Albiglutid	$(HGEGTPTSDVSSYLEGQAAKEPIAWLVKGR)_2$ – genetska fuzija na človeški albumin	*
Taspoglutid	HXEGTPTSDVSSYLEGQAAKEPIAWLVKXR (X = 2-aminoizobutirična kislina)	*
Eksendin-4 (Eksenatid™)	HGEGTPTSDLSKQMEEEAVRLPIEWLKNGGPSSGAPPPS	0,5
Liksisenatid	HGEGTPTSDLSKQMEEEAVRLPIEWLKNGGPSSGAPPSKKKKKK	*

*Podatki niso dostopni.

nica 2). Acilna veriga omogoča nekovalentno vezavo na človeški albumin, kar podaljša razpolovni čas na 11-15 ur (22). Stranski učinki so podobni tistim pri eksenatidu, z izjemo nižje koncentracije protiteles v krvi (22).
Preostali trije peptidi iz preglednice 3 so v poznih fazah kliničnih testiranj, zato zanesljivih podatkov še ni. Strukturno liksisenatid izhaja iz eksendina-4, kateremu je prolin 38 odstranjen, molekula pa je podaljšana s šestimi lizini na C-koncu (22). Albiglutid in taspoglutid sta derivata GLP-1; prvi je rezultat genetske fuzije spremenjenega GLP-1 (alanin na drugem mestu zamenjan z glicinom) dimera in človeškega albumina, drugi pa ima glede na GLP-1 drugo (alanin) in devetindvajseto (glicin) aminokislino zamenjano z 2-aminoizobutirično kislino. Sicer slednja sprememba podaljša razpolovni čas le na približno 5 minut, vendar če zdravilo subkutano injiciramo kot formulacijo s cinkovim kloridom, le-to precipitira in se počasi sprošča z mesta vnosa (22).

Omejitve in slabosti agonistov receptorja GLP-1

Glavne omejitve in slabosti agonistov receptorja GLP-1 so (19):

- Mesto vnosa: Potreba po subkutanem oz. intravenskem vnosu omejuje njihovo uporabo. Najprimernejša bi bila peroralna uporaba.
- Kemijska stabilnost: GLP-1 je v raztopini stabilen le kratek čas. Neoptimalni pogoji (pH, temperatura) pospešujejo racemizacijo, hidrolizo peptidnih vezi, deamidacijo in oksidacijo aminokislin. Eksenatid in liraglutid naj bi bila zadovoljivo stabilna.
- Imunogenost: Pri eksenatidu in liraglutidu se razvijejo protitelesa proti zdravilu. Čeprav se še noben od ostalih novih testiranih peptidov ni izkazal za imunogenega, jih moramo potencialno smatrati kot take.
- Neželeni učinki: Občutek slabosti in bruhanje sta pričakovana in logična neželena učinka, saj agonisti receptorja GLP-1 upočasnijo praznjenje želodca, pojavita se lahko povišan srčni utrip in krvni tlak, povečano pa je tudi tveganje za razvoj akutnega pankreatitisa.

3 NAJNOVEJŠA SPOZNANJA: KOMPETITIVNA INHIBICIJA MONO-ADP-RIBOZILTRANSFERAZE

V naših preteklih raziskavah smo preučevali prenos signala preko receptorja GLP-1. Ugotovili smo, da (a) je tretja znotrajcelična zanka receptorja GLP-1 odgovorna za prenos signala, drugi dve pa sta odgovorni za specifično sklopitev s posameznimi vrstami G-proteinov (23) ter (b) pokazali, da pride do mono-ADP-ribozilacije peptida IC_3, katerega zaporedje ustreza aminokislinskemu zaporedju tretje znotrajcelične zanke v *in vitro* pogojih (24). Slednja ugotovitev nakazuje na verjeten obstoj novega načina regulacije aktivnosti receptorja, neodvisno od tega pa tudi na zmožnost uporabe IC_3 za učinkovitejše zdravljenje sladkorne bolezni tipa 2 in debelosti. V nadaljevanju sledi teoretična razprava, kako to učinkovitost doseči.

Receptor za GLP-1 je podrobno pregledno opisan drugje (17, 25), omenili bomo le bistvene značilnosti, ki so potrebne za razumevanje. Receptor GLP-1 je sklopljen z G_s-proteini in je izražen v mnogih tkivih (22). Aktivacija z agonistom povzroči konformacijske spremembe receptorja, le-te aktivirajo G_s-proteine, ti pa aktivirajo adenilat ciklazo (26). Posledica je lokalno povečana koncentracija cAMP, ta dalje aktivira protein kinazo A ter Epac 1 in 2, le-ti pa spet prenesejo signal do različnih efektorjev, ki vodijo do sproščanja inzulina (26). Vendar prenos informacije ni odvisen samo od prisotnosti agonista, obstaja še več drugih vmesnih regulacijskih točk, kot sta fosforilacija receptorja (27) in mono-ADP-ribozilacija β-podenote G-proteinov (28, 29). Dosedanji pristopi k zdravljenju sladkorne bolezni tipa 2 in debelosti temeljijo predvsem na povečanju količine agonista, zelo malo pa je raziskav glede učinkov agonistov pri visokih koncentracijah in/ali daljšem časovnem obdobju. Peptid IC_3 kot kompetitivni inhibitor mono-ADP-riboziltransferaze (25) bi tako bil uporaben v kombinaciji z agonisti receptorja GLP-1, saj bi preprečil mono-ADP-ribozilacijo β-podenote G-proteinov. β-podenota bi bila tako prosta in bi lahko aktivirala adenilat ciklazo II, kar bi v končni fazi privedlo do sproščanja inzulina (28). Posledično bi bila potrebna nižja količina agonista receptorja GLP-1, kar je vsekakor zelo zaželeno zaradi zgoraj naštetih neželenih učinkov. Dodatno, če je mono-ADP-ribozilacija tudi dejansko mehanizem regulacije aktivnosti receptorja GLP-1 *in vivo*, bo ta učinek še močnejši. S peptidom IC_3 bi tako preprečili mono-ADP-ribozilacijo ne samo β-podenote, ampak tudi tretje znotrajcelične zanke receptorja GLP-1, ki je odgovorna za posredovanje informacije do G-proteinov. Pri tem bi določena količina peptida IC_3 zadostovala za daljši čas, saj je mono-ADP-ribozilacija reverzibilen proces in bi se peptid IC_3 obnavljal. V citoplazmi je namreč poleg encima mono-ADP-riboziltransferaze prisoten tudi encim mono-ADP-ribozilhidrolaza, ki odceplja mono-ADP-ribozo (30), kot na primer pri β-podenoti G-proteinov (28, 29). In kot zadnje, IC_3 deluje tudi kot aktivator G_s-proteinov, torej na enak način kot aktiviran receptor (23), s čimer zaobi-

demo tudi deaktivacijo receptorja s fosforilacijo (27). V ta namen bi teoretično lahko uporabili tudi peptida z aminokislinskim zaporedjem prve (IC_1) in druge (IC_2) znotrajcelične zanke receptorja GLP-1, a glede na to, da sta šibkejša aktivatorja G_s-proteinov kot IC_3 (23), to najbrž ne bi bilo smiselno.

Glede načina vnosa in ciljanja je brez eksperimentalnih podatkov težko razpravljati. IC_3 bi bilo smiselno vnesti subkutano ali intravensko skupaj z agonistom receptorja GLP-1 v sistemski krvni obtok, nato pa poiskati način, da IC_3 preide le v celice, ki izražajo receptor GLP-1. Druga možnost bi bila uporaba genskega zdravila. Najprimernejša bi bila uporaba kationskih liposomov, ki omogočajo prenos linearne DNA ali RNA, vnesemo jih lahko *in vivo* (intravensko ali direktno v tkivo) in so sposobni preiti plazmalemo tarčne celice (31).

4 LITERATURA

1. *Ayoub M and Scheidegger D. Peptide drugs, overcoming the challenges, a growing business. Chemistry today 2006; 24(4): 46–48.*
2. *Glaser V. Competition mounting in peptide market. Genetic Engineering & Biotechnology News 2009; 29(13) (http://www.genengnews.com/gen-articles/competition-mounting-in-peptide-market/2971)*
3. *Frokjaer S and Otzen DE. Protein drug stability: a formulation challenge. Nat Rev Drug Discov 2005; 4: 298–306.*
4. *Peptide Synthesis in Pharmaceutical Manufacturing. PharmPro 2009, June 22 (http://www.pharmpro.com/Articles/2009/06/Peptide-Synthesis-In-Pharmaceutical-Manufacturing/)*
5. *Nolte MS, Karam JH. Pancreatic hormones and antidiabetic drugs. In: Katzung BG. Basic and clinical pharmacology, 9th ed. The McGraw-Hill Companies 2004: 683-703*
6. *Pettit DK and Gombotz WR.The development of site-specific drug-delivery systems for protein and peptide biopharmaceuticals. TrendsBiotechnol 1998; 16: 343–349*
7. *Okada H, Doken Y, Ogawa Y, Toguchi H. Preparation of three-month depot injectable microspheres of leuprorelin acetate using biodegradable polymers. Pharm Res 1994; 11: 1143–1147*
8. *Morishita M, Peppas NA. Is the oral route possible for peptide and protein drug delivery? Drug Discovery Today 2006; 11: 905–910*
9. *Calceti, P. Salmaso S, Walker G, Bernkop-Schnürch A. Development and in vivo evaluation of an oral insulin-PEGdelivery system. Eur J Pharm Sci. 2004; 22: 315-323*
10. *Hashimoto, M. Takada K, Kiso Y, Muranishi S. Synthesis of palmitoyl derivatives of insulin and their biological activities. Pharm. Res. 1989; 6: 171–176*
11. *Kipnes M, Dandona P, Tripathy D, Still JG, Kosutic G. Control of postprandial plasma glucose by an oral insulin product (HIM2) in patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 2003; 26: 421–426*
12. *Goldberg M and Gomez-Orellana I. Challenges for the oral delivery of macromolecules. Nat Rev Drug Discov 2003; 2: 289–295*
13. *Russell-Jones GJ. Use of targeting agents to increase uptake and localization of drugs to the intestinal epithelium. J Drug Target 2004; 12: 113–123*
14. *Zorko, M. and Langel, U. Cell-penetrating peptides: mechanism and kinetics of cargo delivery. Adv Drug Deliv Rev 2005; 57: 529–545*
15. *Barber TM, Begbie H, Levy J. The incretin pathway as a new therapeutic target for obesity. Maturitas 2010; 67: 197–202*
16. *McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS. New interpretation of oral glucose tolerance. Lancet 1964;2:20–1*
17. *Baggio LL and Drucker DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. Gastroenterology 2007; 132: 2131–2157*
18. *Igel LI, Powell AG, Apovian CM, Aronne LJ. Advances in medical Therapy for Weight Loss and the weight-centric management of type 2 diabetes mellitus. Curr Atheroscler Rep 2012; 14:60–69*
19. *Arulmozhi DK, Portha B. GLP-1 based therapy for type 2 diabetes. Eur JPharm Sci 2006; 28: 96–108*
20. *Holst JJ. Implementation of GLP-1 based therapy of type2 diabetes mellitus using DPP-IV inhibitors. Adv Exp Med Biol 2003; 524: 263–279*
21. *Nauck MA. Incretin-based Therapies for Type 2 Diabetes Mellitus: Properties, Functions, and Clinical Implications. Am J Med 2011; 124: S3–S18*
22. *Ahrén B. GLP-1 for type 2 diabetes. Exp Cell Res 2011; 317: 1239–1245*
23. *Bavec A, Hällbrink M, Langel Ü, Zorko M. Different role of intracellular loops of glucagon-like peptide-1 receptor in G-protein coupling. Reg Peptides 2003; 111: 137–144*
24. *Deželak M, Bavec A. Third intracellular loop of glucagon like-peptide-1 receptor is coupled with endogenous mono-ADP-ribosyltransferase – Novel type of receptor regulation? Eur JPharmacol 2011; 666:35-42*
25. *Lund A, Knop FK, Vilsbøll T. Emerging GLP-1 receptor agonists. Expert Opin Emerg Drugs 2011; 16: 607-18*
26. *Doyle ME, Egan JM. Mechanisms of action of glucagon-like peptide 1 in the pancreas Pharmacol Ther 2007; 113: 549–593*
27. *Widmann C, Dolci W, Thorens B. Heterologous desensitization of the glucagon-like peptide-1 receptor by phorbol esters requires phosphorylation of the cytoplasmic tail at four different sites. J Biol Chem 1996; 271: 19957–19963*
28. *Lupi R, Corda D, Di Girolamo M. Endogenous ADP-ribosylation of the G proteinbeta subunit prevents the inhibition of type 1 adenylyl cyclase. J Biol Chem 2000; 275: 9418–9424*
29. *Lupi R, Dani N, Dietrich A, Marchegiani A, Turacchio S, Berrie CP, Moss J, Gierschik P, Corda D, Di Girolamo M. Endogenous mono-ADP-ribosylation of the free Gβγ prevents stimulation of phosphoinositide 3-kinase-γ and phospholipase C-β2 and is activated by G-protein-coupled receptors. Biochem J2002; 367: 825–832*
30. *Okazaki IJ, Zolkiewska A, Takada T, Moss J. Characterization of mammalian ADP-ribosylation cycles. Biochimie 1995;77:319–25*
31. *Mlinarič-Raščan I. Genska zdravila. Farm Vestn 2005; 56: 71–74*

ZAVIRALCI UREAZE

UREASE INHIBITORS

AVTOR / AUTHOR:
Rok Frlan, mag. farm.

Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
Email: rok.frlan@ffa.uni-lj.si

POVZETEK
Ureaza je encim, ki katalizira hidrolizo sečnine do amoniaka in karbamske kisline. Ta encim je tudi eden glavnih vzrokov za razvoj mnogih bolezni, ki nastanejo zaradi okužb z urolitičnimi mikroorganizmi. Med temi sta najbolj poznani peptična razjeda, ki jo povzroča *Helicobacter pylori*, in sečni kamni, ki jih povzročajo *Proteus spp*. ter nekatere druge ureolitične bakterije. Izkoreninjenje bakterij in zdravljenje posledic okužbe je najučinkovitejši način terapije. Ta je zaenkrat relativno uspešna, vendar je ob naglem povečevanju rezistence na protibakterijske učinkovine načrtovanje in razvoj novih načinov zdravljenja pomemben ukrep za učinkovit nadzor nad omenjenimi okužbami. Ena od zelo perspektivnih tarč pri razvoju novih zaviralcev in cepiv so prav ureaze. Razvitih je bilo mnogo selektivnih zaviralcev ureaze, od katerih je najbolj poznana acetohidroksamska kislina, ki je tudi edina z dovoljenjem FDA za uporabo pri okužbah urinarnega trakta.

KLJUČNE BESEDE:
Ureaze, zaviralci, peptična razjeda, sečni kamni, Helicobacter pylori

ABSTRACT
Urease is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of urea to ammonia and carbamate. Ureolytic activity of human pathogens, such as *Helicobacter pylori*, *Proteus spp.* and others is thought to be a causative factor of many clinical conditions, such as peptic ulcer and urinary infection stones. The most efficient therapy which is quite successful at the moment is complete eradication of bacteria and treatment of disease symptoms. Because of the increasing resistance to antibacterial agents the design of new treatment routes is becoming a new focal point to control these diseases in the future. One of perspective targets in the design of novel inhibitors and vaccines is urease. Many inhibitors have been developed so far, however only one compound, acetohydroxamic acid, has been used clinically for the treatment of urinary tract infections.

KEYWORDS:
Ureases, inhibitors, peptic ulcer, urinary stones, Helicobacter pylori

1 UVOD

Ureaza (urea amidohidrolaza, E.C. 3.5.1.5) je metaloencim, ki zaseda posebno mesto v zgodovini organske kemije in biokemije. Sečnina, ki je substrat ureaze, je bila namreč prva sintezna organska spojina, ki so jo uspeli pripraviti iz anorganskih spojin (Friedrich Wöhler, 1828). Ureaza je tudi prvi kristaliziran encim, ki je leta 1926 služil kot posreden dokaz, da so glavna sestavina encimov proteini (Nobelova nagrada, 1946). Poleg tega je to eden redkih encimov z nikljem kot kofaktorjem v aktivnem mestu (1).

V naravi se na leto proizvedejo ogromne količine sečnine, ki nastanejo kot posledica izločanja urina, razkrajanja mrtvih organizmov in uporabe umetnih gnojil. Ker je nekatalizirana spontana hidroliza sečnine dokaj počasen proces ($\tau_{1/2} \approx 33$ let), bi se ob odsotnosti ureaz le-ta kopičila v naravi. Z ureazami katalizirana hidroliza je 10^{17} krat hitrejša, kot glavna produkta pa nastaneta amoniak in karbamska kislina, ki nato ob prisotnosti vode spontano hidrolizira do ogljikove kisline in dodatne molekule amoniaka (slika 1) (1).

Encim je zaradi lahke dostopnosti substrata široko zastopan v rastlinah, bakterijah in glivah, ne najdemo pa ga pri živalih. Ureaze imajo zelo pomembno vlogo pri homeostazi dušika v naravi. Ureoliza je namreč zadnja stopnja metabolizma dušika pri nekaterih organizmih, medtem ko je pri

drugih organizmih amoniak tisti vir dušika, ki ga ti potrebujejo za rast in razvoj (2).

2 PATOFIZIOLOŠKA VLOGA UREAZ

Kljub nedvomno pomembni vlogi v homeostazi dušika imajo ureaze nekaterih gliv in bakterij pomembno vlogo pri razvoju nekaterih bolezenskih stanj, predvsem v prebavilih in sečilih, od katerih sta najbolj pogosti in poznani obolenji peptična razjeda in sečni kamni (2). Težave pri okužbah z urolitičnimi organizmi so predvsem posledica dveh vzrokov: a) lokalnega dviga pH v področjih, ki so v običajnih fizioloških razmerah nevtralna oziroma kisla, kar lahko, v odvisnosti od kolonizacijskega mesta, povzroči vrsto škodljivih posledic, b) sproščenega amoniaka, ki je toksičen za sesalske celice in lahko povzroča resne metabolne motnje v večini živalskih tkiv in organov (3).

Po drugi strani pa je delovanje ureaz iz mikroorganizmov v našem organizmu lahko tudi koristno, saj imajo le-te eno od ključnih vlog pri homeostazi ustne votline. Pretvorba sečnine do amoniaka s pomočjo ureaz namreč zavira glikolitično nakisanje in nastajanje zobnih oblog (4).

2.1 POMEN UREAZ PRI OKUŽBAH SEČIL

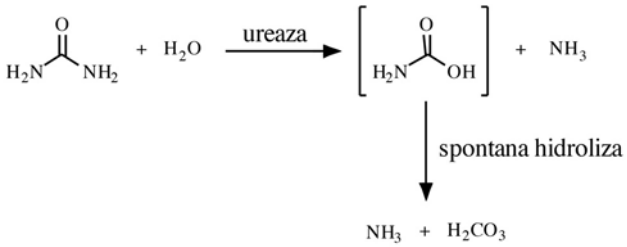
Sečni kamni so bolezen, ki prizadene približno 5% prebivalstva. Gre za pogosto in resno patološko stanje, ki lahko ob zakasnelem ali neustreznem zdravljenju privede do ledvične odpovedi ali smrti zaradi urosepse. Kamni ponavadi nastanejo zaradi spleta večih dejavnikov, vendar so glavni vzrok za nastanek kamnov predvsem metabolne motnje, dolgotrajne okužbe z urolitičnimi bakterijami (infekcijski ledvični kamni) in obstrukcija urinarnega trakta. Urolitična aktivnost ureaz bakterij rodov *Ureaplasma, Proteus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* in *Klebsiella* v urinu je pomemben dejavnik pri nastanku 15% vseh ledvičnih kamnov. Glavni spojini, ki ob tem sprožita nastajanje precipitatov v urinu sta amoniak in CO_2, ki v višjih koncentracijah povzročata obarjanje polivalentnih kationov v obliki amonijevega urata, struvita (amonijev magnezijev fosfat) in/ali karbonatnega apatita (slika 2). Značilnost tovrstnih infekcij je zelo hitra rast kamnov, ki ponavadi nastanejo v 4-6 tednih (5)(6).

Zdravljenje bolnikov poteka najbolj učinkovito v več stopnjah (5):

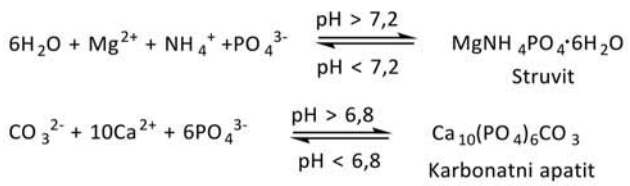
a) odstranjevanje sečnih kamnov.
   Če so kamni manjši od 5 mm se ponavadi izločijo sami v štirih tednih po nastopu simptomov, vendar je pri hujših infekcijah potrebna njihova kirurška odstranitev.
b) odstranjevanje urolitičnih bakterij z antibiotiki
   Cilj terapije z antibiotiki je uničenje vseh urolitičnih bakterij in posledično vzdrževanje topnostnega produkta struvita in apatita pod kritično koncentracijo obarjanja. Ob sočasni odstranitvi že prisotnih sečnih kamnov in antibiotično terapijo je možnost ponovnega pojava kristalizacijskih jeder 10%.
c) preventiva pred ponovitvijo okužbe.
   Najpomembnejši ukrep za preprečevanje ponavljajočih okužb sečil in ponovnega nastajanja kamnov je zadosten vnos tekočine.

2.2 OKUŽBE PREBAVIL S *H. PYLORI*

H. pylori je Gram-negativna bakterija, s katero je okužena več kot polovica človeške populacije. Ureaza, ki predstavlja kar 5 - 10 % celotne mase proteinov *H. pylori*, je glavni vzrok za razvoj gastroduodenalnih bolezni, kot so atrofični gastritis, gastrični esofagealni refluks (GERD), dispepsija in peptična razjeda (*H. pylori* je prisotna pri več kot 70% primerov), ki lahko povzročijo MALT limfom ali rak želodca.



Slika 1: Z ureazo katalizirana hidroliza sečnine (1).
Figure 1: Urease catalyzed urea hydrolysis (1).



Slika 2: Mehanizem tvorbe infekcijskih sečnih kamnov iz amoniaka in ogljikovega dioksida, ki nastaneta pri hidrolizi sečnine (5).
Figure 2: Formation of infection-induced stones from ammonia and carbon dioxide formed during urea hydrolysis (5).

Bakterija se zna učinkovito prilagoditi na smrtonosni kisli medij želodca, pri čemer si pomaga z reakcijo ureolize sečnine do CO_2 in amoniaka. Slednji nevtralizira okolico bakterije in ji na ta način omogoča preživetje, hkrati pa povzroča poškodbe epitelija ter kronično vnetje želodčne sluznice, kar omogoči širjenje infekcije globlje v mukozo. Tudi sproščeni CO_2 ima pomembno vlogo pri zagotavljanju preživetja bakterije, saj nevtralizira za bakterijo toksični peroksinitrit ($ONOO^-$), ki ga proizvaja imunski sistem. Poleg tega ima tudi sam encim pomembno vlogo v imunskem odzivu med razvojem bolezni, saj stimulira proizvodnjo mutagenih reaktivnih kisikovih zvrsti (6).

Izkoreninjenje okužbe s *H. pylori* je najučinkovitejše zdravljenje razjed, hkrati pa se na ta način zmanjša verjetnost ponovitve bolezni. Standardno zdravljenje traja v Evropi in na Japonskem en teden in je sestavljeno iz zaviralca protonske črpalke ter dveh antibiotikov (klaritromicin, amoksicilin/metronizadol). Število okuženih v zadnjih letih se v razvitih deželah in v Sloveniji zaradi boljših higienskih in bivalnih razmer ter zaradi uspešnega eradikacijskega zdravljenja zmanjšuje. Prevalenca okužbe v Sloveniji je 25,1%, kar je primerljivo z evropskim povprečjem (7).

3 ZAVIRALCI UREAZE

3.1 UVOD

Trenutno stanje na področju razvoja novih protibakterijskih učinkovin je resno, saj sta hitrost pojava in raznolikost rezistentnih organizmov v zadnjih desetletjih močno narasli. Za določene bakterijske okužbe tako nimamo več na voljo ustreznih zdravil, kar je predvsem posledica velike evolucijsko pogojene sposobnosti prilagajanja bakterij na spremembe v okolju (8).

Podoben trend beležimo tudi pri zdravljenju okužb z urolitičnimi bakterijami. Kljub relativno uspešnemu zdravljenju okužb s *H. pylori*, je pojav rezistentnih sevov skrb vzbujajoč, saj se le-ta pričakovano naglo povečuje. Po podatkih iz leta 2009 je v Sloveniji rezistentnost na klaritromicin 17,5 %, na metronidazol pa 18,6 %. Zaradi naraščajoče rezistence se uspešnost prvega zdravljenja v večini držav, vključno s Slovenijo, naglo znižuje in je trenutno pod 80% (9). Zdravljenje okužb urinarnega trakta je manj skrb vzbujajoče, saj imamo zaenkrat še vedno na voljo dovolj velik nabor zdravilnih učinkovin. Vendar je, glede na splošen trend naraščanja rezistence, verjetno samo vprašanje časa, kdaj se bodo tudi pri teh okužbah pojavili multirezistentni sevi (10).

Načrtovanje in razvoj novih načinov zdravljenja je zato pomemben ukrep za učinkovit nadzor nad tovrstnimi okužbami v bližnji prihodnosti. Ena od zelo perspektivnih tarč pri razvoju novih zaviralcev in cepiv so prav ureaze, ki so kot pomemben antigen in virulenčni faktor vpletene v mnoga bolezenska stanja. Velik raziskovalni napor je bil usmerjen predvsem v iskanje cepiv in zaviralcev ureaze *H. pylori*. Kljub vzpodbudnim imunološkim rezultatom na živalih zaenkrat še nimamo razvitega cepiva proti ureazi te bakterije. Največji napredek je tako dosežen pri razvoju nizkomolekularnih zaviralcev, katerih uporaba je še vedno omejena zaradi nekaterih resnih neželenih učinkov in/ali slabih farmakokinetičnih lastnosti. Razvoj na tem področju je trenutno usmerjen predvsem v iskanje varnejših učinkovin z dobrimi farmakokinetičnimi lastnostmi, kar predstavlja pomemben ukrep za nadzor nad to boleznijo v prihodnosti. Selektivni zaviralci ureaz tudi ponujajo možnost nadomeščanja drage tritirne terapije s cenejšim in bolj selektivnim pristopom (2)(6)(11).

Zaviralce ureaze lahko glede na njihovo kemijsko strukturo razdelimo na derivate hidroksamskih kislin, fosforodiamidate in alkilfosfinate, komplekse kovin in njihove soli, organokovinske zaviralce, polifenole, tiole in sulfide ter imidazole. Nekaj strukturnih razredov izkazuje visoko zaviralno aktivnost, pri čemer še posebej izstopajo hidroksamske kisline in fosforodiamidati. Obširni *in vivo* poskusi so pokazali, da imajo zaviralci ureaz (predvsem acetohidroksamska kislina (AHK) in flurofamid) velik potencial za zdravljenje okužb gastrointestinalnega in urogenitalnega trakta. Biokemične in klinične lastnosti predstavnikov nekaterih pomembnejših strukturnih razredov so prikazane v preglednici 1 (12).

3.2 HIDROKSAMSKE KISLINE

Hidroksamske kisline (slika 3) predstavljajo eno od najbolj proučevanih skupin zaviralcev različnih encimov, med katerimi so tudi ureaze. Njihovo zaviralno delovanje je posledica keliranja enega od Ni v aktivnem mestu encima, s katerim tvorijo močno ion-dipol interakcijo (12).

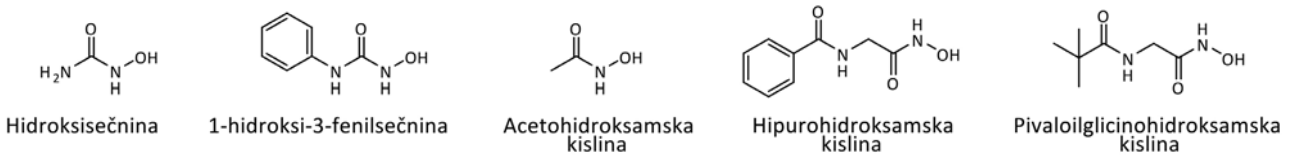
Najbolj poznana zaviralca s hidroksamsko funkcionalno skupino sta hidroksisečnina (hidroksikarbamid) in acetohidroksamska kislina. Prva se uporablja kot antineoplastična

Preglednica 1: Biokemične in klinične lastnosti nekaterih pomembnejših zaviralcev ureaze (12).
Table 1: Biochemical and clinical properties of some more important urease inhibitors (12).

Zaviralec ureaze	Biokemične lastnosti	Klinične lastnosti
Acetohidroksamska kislina (AHK)	Inhibira ureazo *H. pylori* in *P. mirabilis*; deluje bakteriostatično in baktericidno na *H. pylori*, popolnoma zavre kemotaktično aktivnost *H. pylori*	Uporaba pri zdravljenju hiperamoniemije, zavre dvig pH urina pri okužbi urina s *P. mirabilis*; zmanjša velikost kamnov pri okužbi s *Proteus spp.*; neželeni učinki: teratogena, motnje delovanja živčevja in kože
3-metoksihipurohidroksamska kislina	Inhibira ureazo *H. pylori*	Visok očistek, prepreči nastajanje žolčnih kamnov
N-pivaloilglicinohidroksamska kislina	Inhibira ureazo *P. mirabilis*	Zavre dvigovanje pH urina in tvorbo kamnov, manj mutagena v primerjavi z AHK
Flurofamid	Zelo močan zaviralec ureaze, inhibira samo zunajcelično ureazo, deloma prepreči kemotaktično aktivnost *H. pylori*	Ne pozdravi okužbe s *H. pylori*; prepreči nastajanje sečnih kamnov v katetrih
Omeprazol, rabeprazol, lansoprazol	Inhibira ureazi *H. pylori* in *P. mirabilis in vitro*	V kombinaciji z antibiotiki popolnoma pozdravi okužbo s *H. pylori* v večjih odmerkih (80 mg/dan)

učinkovina pri zdravljenju mieloproliferativnih obolenj, AIDS-a, luskavice in zdravljenju anemije srpastih celic, vendar se zaradi nekaterih resnih neželenih učinkov ne uporablja pri zdravljenju okužb z urolitičnimi bakterijami. V želji po pripravi zaviralcev z manj neželenimi učinki je bilo sintetiziranih nekaj derivatov hidroksisečnine s podobno jakosto zaviranja (IC_{50} = 19,3 μM, ureaza *C. ensiformis*) (13). Druga, acetohidroksamska kislina, je najpogosteje preizkušan visoko selektivni zaviralec ureaz (IC_{50} = 20 μM, ureaza *H. pylori*). Zanjo je značilno, da deluje baktericidno in bakteriostatično na *H. pylori*, kar vodi v zmanjšanje razjede želodca in hipergastrinemije ter popolno odpravo gastritisa. Učinkovita je tudi pri okužbah urina, saj pri dolgotrajni uporabi zavre s *P. mirabilis* povzročeno nastajanje sečnih kamnov za 46 - 60%. Kljub teratogenemu delovanju in povzročanju motenj v delovanju živčnega sistema in kože je že leta 1983 dobila dovoljenje FDA za promet. Zaenkrat je to tudi edini klinično uporabljan zaviralec ureaze, ki se v ZDA in nekaterih evropskih državah uporablja za zdravljenje hiperamoniemije pri bolnikih s cirozo jeter in pri kroničnih okužbah urina (12)(14).

Zaradi uspeha acetohidroksamske kisline je bilo sintetizirano večje število derivatov glicinohidroksamske kisline, katerih namen je bil predvsem zmanjšanje neželenih učinkov ob enaki ali večji učinkovitosti. Med uspešnejšimi sta hipurohidroksamska in pivaloilglicinohidroksamska kislina, ki v kombinaciji z antibiotiki uspešno znižata previsok pH urina in zavreta tvorbo žolčnih kamnov zaradi okužbe s *P. mirabilis*. Omenjeni spojini sta tudi manj teratogeni od acetohidroksamske kisline (15).



Slika 3: Hidroksamske kisline.
Figure 3: Hydroxamic acids.

3.3 FOSFORODIAMIDATI IN FOSFINATI

Amidi in estri fosforjeve(V) kisline (slika 4) predstavljajo prvo skupino zaviralcev ureaz z največjo zaviralno aktivnostjo. Omenjene spojine so predzdravila fosforodiamidinske kisline, ki se sprosti po encimski hidrolizi prvotne strukture. Zaradi podobnosti fosforodiamidinske kisline s prehodnim stanjem encimsko katalizirane reakcije hidrolize sečnine imajo ti zaviralci visoko zaviralno aktivnost v srednjem nanomolarnem območju (16).

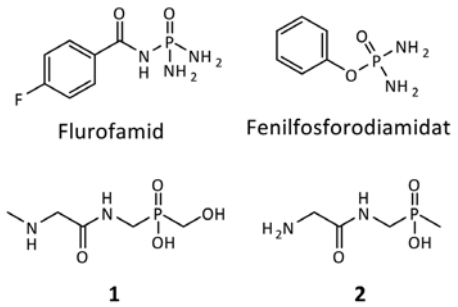
Kljub zelo dobrim zaviralnim učinkom pa je ena od glavnih težav fosforodiamidatov nizka stabilnost v kislem mediju želodca in slabo prehajanje preko bakterijske celične stene. Najmočnejši zaviralec ureaze flurofamid (K_d = 4 nM, IC_{50} = 100 nM) je zato neučinkovit pri okužbi želodca s *H. pylori*. Veliko bolj je stabilen v nevtralnem in rahlo bazičnem mediju, zato se je izkazal predvsem kot sredstvo proti mašenju katetrov zaradi infekcij s *P. mirabilis*, kjer tudi zmanjša previsok pH urina (17).

V drugo skupino spadajo metil- in hidroksimetilfosfinati z visoko hidrolitično stabilnostjo v kislem ter enako ali večjo zaviralno aktivnostjo v primerjavi s fosforodiamidati (IC_{50} = 0,96 μM, K_i = 0,36 μM, *B. pasteurii*, spojina **1**). Tudi te spojine posnemajo prehodno stanje encimsko katalizirane reakcije hidrolize sečnine, vendar za svoje delovanje ne potrebujejo predhodne hidrolitične aktivacije. Omenjeni zaviralci so bili razviti pred kratkim, zato še ni poročil o njihovi *in vivo* aktivnosti (18)(19).

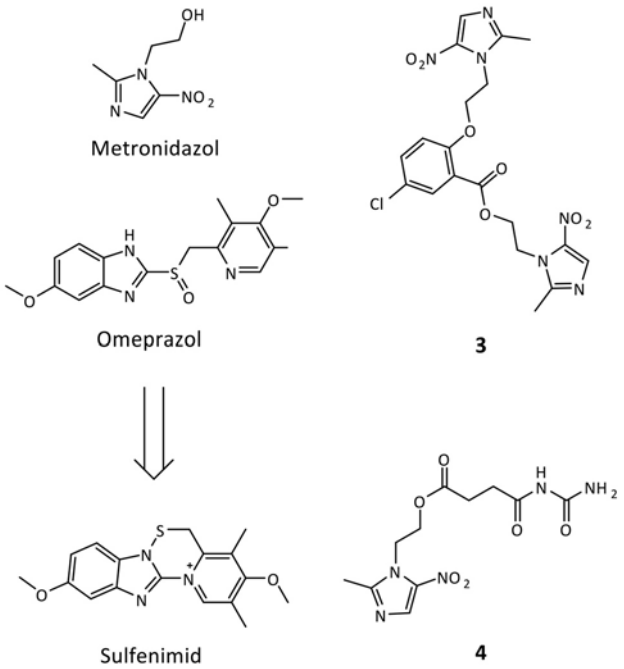
3.4 IMIDAZOLI

Zaviralci protonske črpalke, kot so rabeprazol, omeprazol in lansoprazol, so zdravilne učinkovine, ki se uporabljajo za zdravljenje razjed želodca v kombinaciji z ustreznimi antibiotiki. Tipični predstavnik te skupine zdravilnih učinkovin je omeprazol, ki je predzdravilo, iz katerega v kislem mediju po pretvorbi nastane sulfenamid, ki se kovalentno veže na cisteinski ostanek na H^+/K^+ ATPazi parietalnih celic. Nastanek sulfenamida iz omeprazola (IC_{50} = 100 μM, nevtralen pH) in njegovih analogov naj bi bil tudi odgovoren za selektivno zaviranje ureaze *H. pylori*, kar pa ni vzrok njihovega protibakterijskega delovanja (slika 5) (20).

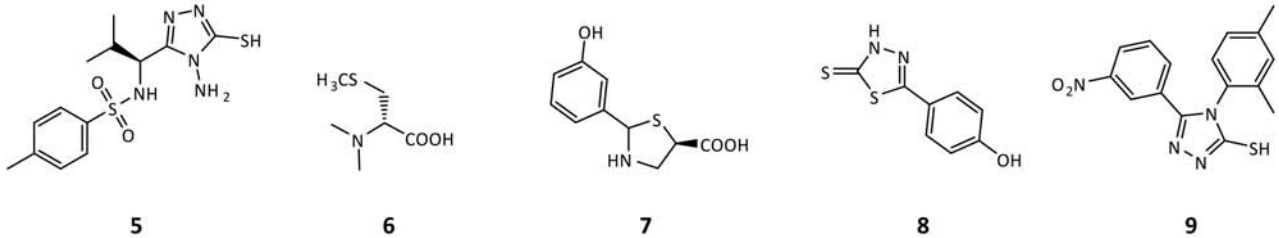
Ureazo *H. pylori* inhibirajo tudi derivati nitroimidazolnega antibiotika metronidazola, z aktivnostjo, ki je primerljiva acetohidroksamski kislini (spojina **3**, IC_{50} = 12 μM). V nekaterih primerih je metronidazol derivatiziran s fragmenti, ki posnemajo sečnino (npr. *N*-hidroksisečnina, *N*,*N*-dihidroksisečnina, *N*-hidroksigvanidin ipd.), kar izboljša prepoznavo spojine s strani encima, zato je protiureazna aktivnost proti *H. pylori* v teh primerih večja kot pri samem metronidazolu (spojina **4**, RA = 4 %, metronidazol, RA = 94 %, 30 nM) (21)(22).



*Slika 4: Fosforodiamidati (flurofamid, fenilfosforodiamidat) in fosfinati (**1** in **2**)*
*Figure 4: Phosphorodiamidates (flurofamide, phenyl phosphorodiamidate) and phosphinates (**1** and **2**)*



Slika 5: Imidazolni zaviralci ureaze H. pylori in nastanek sulfenimida iz omeprazola v kislem mediju želodca.
Figure 5: Urease inhibitors with imidazole structure and the formation of sulfenimide from omeprazole in acidic stomach medium.



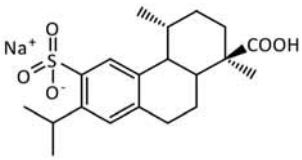
Slika 6: Tiolni in sulfidni zaviralci ureaze. ***5****: IC_{50} (ureaza fižola) = 22 μM,* ***6****: IC_{50} (ureaza P. mirabilis) = 31 μM, IC_{50} (ureaza B. pasteurii) = 20 μM,* ***7****: IC_{50} (ureaza B. pasteurii) = 4,23 μM,* ***8****: Ki (ureaza B. pasteurii) = 2 μM,* ***9****: IC_{50} (ureaza C. ensiformis) = 45 μM (23)(24)(25)(26)(27).*
Figure 6: Urease inhibitors with thiol and sulfide functional group. ***5****: IC_{50} (jack bean urease) = 22 μM,* ***6****: IC_{50} (P. mirabilis urease) = 31 μM, IC_{50} (B. pasteurii urease) = 20 μM,* ***7****: IC_{50} (B. pasteurii urease) = 4,23 μM,* ***8****: Ki (B. pasteurii urease) = 2 μM,* ***9****: IC_{50} (jack bean urease) = 45 μM (23)(24)(25)(26)(27).*

3.5 TIOLI IN SULFIDI

Za zaviralce s sulfidno in/ali tiolno funkcionalno skupino je značilno, da je njihovo zaviralno delovanje posledica relativno močne interakcije med žveplom v zaviralcu in Ni^{2+} v aktivnem mestu encima. Znanih je kar nekaj omenjenih zaviralcev z dobrim *in vitro* zaviralnim delovanjem v mikromolarnem območju in z dokazano protibakterijsko aktivnostjo (slika 6) (23)(24)(25)(26)(27).

3.6 1-FENANTRENKARBOKSILNA KISLINA

Natrijev ekabetat (slika 7) je zdravilna učinkovina, ki se uporablja kot mukoprotektivno sredstvo pri zdravljenju razjed želodca in izsušene očesne sluznice. Njeno mukoprotektivno delovanje je posledica več dejavnikov, med katerimi so najbolj pomembne predvsem zaviranje ureaze *H. pylori* in njene mukoadhezije ter zaviranje pepsina. Spojina je aktivna samo v kislem mediju, zato predvidevajo, da je njen glavni učinek neselektivna denaturacija omenjenih encimov, ki sodelujejo v procesu nastanka razjede želodca (28)(29).



Slika 7: Natrijev ekabetat (28).
Figure 7: Ecabet Sodium (28).

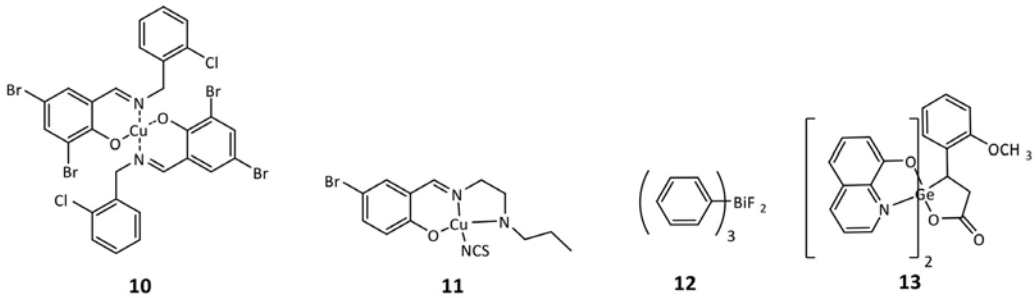
3.7 KOMPLEKSI KOVIN IN NJIHOVE SOLI

O zaviranju ureaze z različnimi kovinami so prvič poročali že leta 1949. Delovanje ureaze zavirajo različni kationi prehodnih kovin v naslednjem padajočem zaporedju Hg^{2+} > Cu^{2+} > Bi^{3+} > Zn^{2+} > Cd^{2+} > Ni^{2+} > Pb^{2+} > Co^{2+} > Fe^{3+}> As^{3+}. Domnevajo, da omenjene kovine interagirajo z SH skupino Cys pri vhodu v aktivno mesto encima, saj je jakost zaviranja sorazmerna stabilnosti kovinskih sulfidov. Najbolj poznani zaviralci iz te skupine so bizmutove soli, ki se že dolgo uporabljajo za zdravljenje razjed na želodcu in pri okužbah s *H. pylori.* Na žalost bizmutovi pripravki v Sloveniji niso registrirani, kljub temu, da se bizmutov subsalicilat, koloidni bizmutov subcitrat in ranitidin bizmutov citrat pogosto uporabljajo po svetu kot zdravilo druge izbire pri zdravljenju diareje, dispepsije in razjed želodca. Domnevajo, da ima zaviranje ureaze pomembno vlogo pri protibakterijski aktivnosti bizmutovih soli (32).

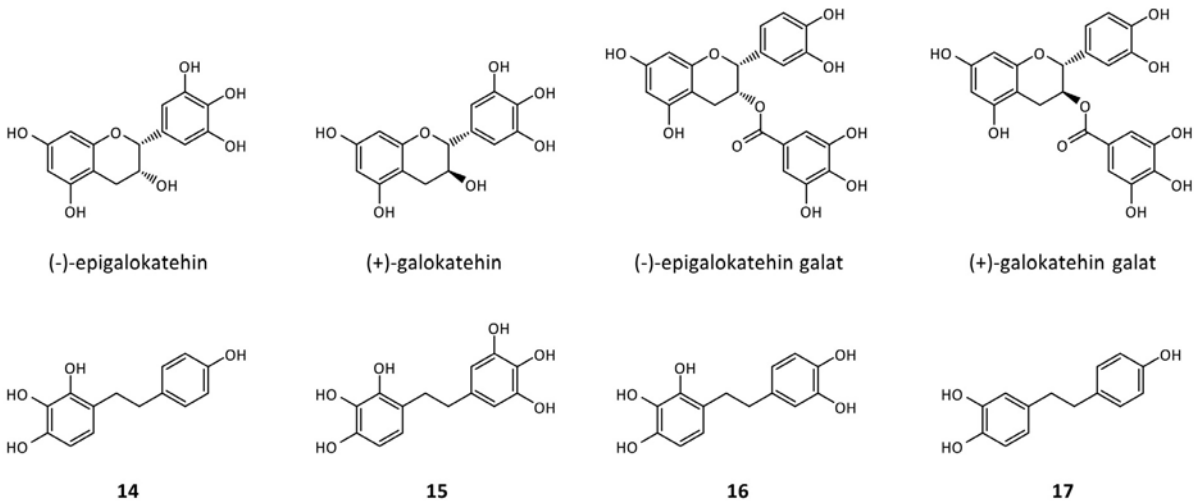
Zaviranje ureaze v nižjem mikromolarnem območju je značilna tudi za komplekse prehodnih kovin, od katerih so v literaturi največkrat opisani kompleksi salenskega tipa (slika 8). Kljub temu, da imajo zelo dobro protibakterijsko aktivnost, ni znano, ali je ta posledica zaviranja bakterijskih ureaz. Poleg tega v literaturi večinoma omenjajo zaviranje rastlinskih ureaz, ni pa poročil o zaviranju bakterijskih oblik encima (30) (31).

3.8 ORGANOKOVINSKI ZAVIRALCI

Podobno kot kompleksi prehodnih kovin tudi organokovinski zaviralci ureaze, pri katerih je prehodna kovina vezana preko kovalentne vezi neposredno na ogljik, delujejo



*Slika 8: Kompleksi salenskega tipa (**10**, **11**) in organokovinski zaviralci (**12**, **13**). **10**: IC_{50} (ureaza fižola) = 0,52 μM, **11**: IC_{50} (ureaza fižola) = 7,05 μM, **12**: k = 158·10^{-5} s^{-1}, MIC (H. pylori) = 0,5 mg/L, **13**: IC_{50} (ureaza P. mirabilis) = 31 μM, MIC (P. mirabilis) = 61 μM (30)(31)(33)(34).*
*Figure 8: Salen-type complexes and organometallic inhibitors. **10**: IC_{50} (jack bean urease) = 0,52 μM, **11**: IC_{50} (jack bean urease) = 7,05 μM, **12**: k = 158·10^{-5} s^{-1}, MIC (H. pylori) = 0,5 mg/L, **13**: IC_{50} (P. mirabilis urease) = 31 μM, MIC (P. mirabilis) = 61 μM (30)(31)(33)(34).*



*Slika 9: Flavonoidi, polihidroksibenzilni derivati **14-17** in protiureazna aktivnost (H. pylori). **14**: IC_{50} = 30 μM, **15**: IC_{50} = 0,2 μM, **16**: IC_{50} = 1,1 μM, **17**: IC_{50} = 1,5 μM, IC_{50} = 4,2 μM (ureaza v intaktnih bakterijskih celicah)(35)(38).*
*Figure 9: Flavonoids, polyhydroxybenzyl derivatives **14-17** and corresponding antiurease activity. **14**: IC_{50} = 30 μM, **15**: IC_{50} = 0,2 μM, **16**: IC_{50} = 1,1 μM, **17**: IC_{50} = 1,5 μM, IC_{50} = 4,2 μM (urease in intact bacterial cells) (35)(38).*

protibakterijsko. Med njimi so najbolj poznane organobizmutove in organogermanijeve spojine, ki inhibirajo *H. pylori* in *P. mirabillis* (slika 8) (32)(33)(34).

3.9 POLIFENOLI

Polifenoli predstavljajo eno najbolj razširjenih in strukturno različnih spojin v zdravilnih in prehrambenih rastlinah. Obširne epidemiološke študije in *in vitro* poskusi so potrdili, da imajo polifenoli mnoge ugodne biološke učinke. Nekateri med njimi tudi inhibirajo ureazo *H. pylori* v mikromolarnem območju in zavrejo rast omenjene bakterije. V uporabi je tako večje število rastlinskih pripravkov z visoko vsebnostjo polifenolov, ki naj bi imeli zdravilni učinek pri gastrointestinalnih in urogenitalnih obolenjih, ki so posledica okužb z urolitičnimi mikroorganizmi (35).

Med bolj poznanimi pripravki so ekstrakti korenine zlatice (*R. repens*), rožmarina, jabolčnih olupkov in zeleni čaj (IC_{50} =13 μg/mL), ki vsebujejo večje količine katehinov, ki inhibirajo ureazo *H. pylori* (slika 9). Zaviralne vrednosti nekaterih katehinov, npr. epigalokatehina (IC_{50} = 19,6 μM), epigalokatehin galata (IC_{50} = 2,2 μM), galokatehina (IC_{50} = 8,7 μM) in galokatehin galata (IC_{50} = 9,8 μM), so celo večje kot pri acetohidroksamski kislini. V živalskih modelih je ekstraktom zelenega čaja tako uspelo značilno zmanjšati obseg gastritisa, povzročenega s *H. pylori*. Tudi epidemiološke raziskave so pokazale, da pitje zelenega čaja značilno zmanjša

tveganje za kronični atrofični gastritis in raka na želodcu. Zeleni čaj je tako lahko relativno varen dodatek k standardnemu zdravljenju obolenj zaradi okužbe s *H. pylori* (36). Protiureazno aktivnost imajo tudi sintezni mimetiki flavonov in izoflavonov. Ugotovili so, da sta za protiureazno aktivnost predvsem pomembna obročna sistema s fenolnimi OH skupinami, ki sta povezana preko dveh atomov. Najbolj aktivni zaviralci, npr. **17**, so bili na bakterijskih celicah *H. pylori* celo 10 - 20x bolj aktivni kot acetohidroksamksa kislina (37)(38).

4 SKLEP

Zaradi naraščajoče rezistence bakterij na protibakterijske učinkovine postaja načrtovanje novih načinov zdravljenja vse bolj pomembno. Ena od zelo obetavnih tarč novih protibakterijskih učinkovin so prav ureaze, ki ponujajo možnost nadzora tako nad *H. pylori* kot nad okužbami sečil. Pripravljenih je bilo mnogo raznovrstnih zaviralcev, med katerimi izstopa predvsem acetohidroksamska kislina, za katero so na žalost značilni tudi nekateri resni neželeni učinki kot so teratogenost, nevrološke motnje in motnje v delovanju kožnega sistema. Za večino razvitih zaviralcev tako velja, da je potrebno izboljšati varnost, farmakokinetične lastnosti in *in vivo* učinkovitost. Ureaze tako ostajajo pomembna tarča razvoja novih zdravilnih učinkovin za zdravljenje okužb z urolitičnimi bakterijami.

5 LITERATURA

1. *Wang W-H, Kohler B, Cao F-Q, Liu LH. Molecular and physiological aspects of urea transport in higher plants. Plant Sci 2008; 175 (4): 467-477.*
2. *Mobley HL, Island MD, Hausinger RP. Molecular biology of microbial ureases. Microbiol Rev 1995; 59 (3): 451-480.*
3. *Kleiner D, Traglauer A, Domm S. Does ammonia production by Klebsiella contribute to pathogenesis? Bull Inst Pasteur 1998; 96 (4): 257-265.*
4. *Wijeyeweera RL, Kleinberg I. Acid-base pH curves in vitro with mixtures of pure cultures of human oral microorganisms. Arch Oral Biol 1989; 34 (1): 55-64.*
5. *Bichler K-H, Eipper E, Naber K, Braun V, Zimmermann R, Lahme S. Urinary infection stones. Int J Antimicro Ag 2002; 19 (6): 488-498.*
6. *Burne RA, Chen YY: Bacterial ureases in infectious diseases. Microbes Infect 2000; 2 (5): 533-542.*
7. *Tepeš B, Štabuc B. Slovenian society for gastroenterology and hepatology guidelines on the management of Helicobacter pylori infection. Zdrav Vestn 2011; 80 (9): 647-656.*
8. *Overbye KM, Barrett JF. Antibiotics: where did we go wrong? Drug Discov Today 2005; 10 (1): 45-52.*
9. *Jeverica S, Tepeš B, Ihan A, Skvarč M. Cumulative Helicobacter pylori eradication rates in Slovenia in the year 2008. Zdrav Vestn 2010; 79 (1): 25–30.*
10. *Karlowsky JA, Lagacé-Wiens PR, Simner P et al. Antimicrobial resistance in urinary tract pathogens in canada from 2007 to 2009: CANWARD Surveillance Study. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55 (7): 3169-75.*
11. *Williamson JS. Helicobacter pylori: current chemotherapy and new targets for drug design. Curr Pharm Des 2001; 7 (5): 355-392.*
12. *Follmer C. Ureases as a target for the treatment of gastric and urinary infections. J Clin Pathol 2010; 63 (5): 424-430.*
13. *Uesato S, Hashimoto Y, Nishino M, Nagaoka Y, Kuwajima H. N-Substituted hydroxyureas as urease inhibitors. Chem Pharm Bull 2002, 50(9), 1280-1282 .*
14. *Morris NS, Stickler DJ. The effect of urease inhibitors on the encrustation of urethral catheters. Urol Res 1998; 26 (4): 275-279.*
15. *Satoh M, Munakata K, Takeuchi H et al. Evaluation of effects of novel urease inhibitor, N-(pivaloyl)glycinohydroxamic acid on the formation of an infection bladder stone using a newly designed urolithiasis model in rats. Chem Pharm Bull 1991; 39 (4): 894-196.*
16. *Dominguez MJ, Sanmartin C, Font M et al. Design, synthesis, and biological evaluation of phosphoramide derivatives as urease inhibitors. J Agric Food Chem 2008; 56 (10): 3721-3731.*
17. *Aristoteli LP, O'Rourke JL, Danon S et al. Urea, fluorofamide, and omeprazole treatments alter Helicobacter colonization in the mouse gastric mucosa. Helicobacter 2006; 11 (5): 460-468.*
18. *Vassiliou S, Grabowiecka A, Kosikowska P et al. Design, synthesis, and evaluation of novel organophosphorus inhibitors of bacterial ureases. J Med Chem 2008; 51 (18): 5736-5744.*
19. *Vassiliou S, Kosikowska P, Grabowiecka A et al. Computer-aided optimization of phosphinic inhibitors of bacterial ureases. J Med Chem 2010; 53 (15): 5597-5606.*
20. *Nagata K, Takagi E, Tsuda M et al. Inhibitory action of lansoprazole and its analogs against Helicobacter pylori: inhibition of growth is not related to inhibition of urease. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39 (2): 567-570.*
21. *Mao W, Lv P, Shi L, Li H, Zhu H. Synthesis, molecular docking and biological evaluation of metronidazole derivatives as potent Helicobacter pylori urease inhibitors. Bioorg Med Chem 2009; 17 (21): 7531-7536.*
22. *Ems SA. Antibacterial and/or antiprotozoal nitroimidazole derivative compounds with urease inhibitor activity, process for preparing these compounds and use in pharmaceutical compositions and medicines. US072929 2007.*
23. *Amtul Z, Kausar N, Follmer C et al. Cysteine based novel noncompetitive inhibitors of urease(s) - Distinctive inhibition susceptibility of microbial and plant ureases. Bioorg Med Chem 2006; 14 (19): 6737-6744.*
24. *Akhtar T, Hameed S, Khan KM, Choudhary MI. Syntheses, urease inhibition, and antimicrobial studies of some chiral 3-substituted-4-amino-5-thioxo-1H,4H-1,2,4-triazoles. Med Chem 2008; 4 (6): 539-543.*
25. *Amtul Z, Rasheed M, Choudhary MI et al. Kinetics of novel competitive inhibitors of urease enzymes by a focused library of*

oxadiazoles/thiadiazoles and triazoles. Biochem Bioph Res Co 2004; 319 (3): 1053-1063.
26. *Khan KM, Zia U, Lodhi MA et al. Successful computer guided planned synthesis of (4R)-thiiazolidine carboxylic acid and its 2-substituted analogues as urease inhibitors. Mol Divers 2006; 10 (2): 223-231.*
27. *Khan I, Ali S, Hameed S, Rama NH et al. Synthesis, antioxidant activities and urease inhibition of some new 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives. Eur J Med Chem 2010; 45 (11): 5200-5207.*
28. *Ito Y, Shibata K, Hongo A, Kinoshita M. Ecabet sodium, a locally acting antiulcer drug, inhibits urease activity of Helicobacter pylori. Eur J Pharmacol 1998; 345 (2): 193-198.*
29. *Pearson JP, Roberts NB. Mucosal protective effects of ecabet sodium: pepsin inhibition and interaction with mucus. Clin Sci 2001; 100 (4): 411–417.*
30. *Chen W, Li Y, Cui Y et al. Synthesis, molecular docking and biological evaluation of Schiff base transition metal complexes as potential urease inhibitors. Eur J Med Chem 2010; 45 (10): 4473-4478.*
31. *You Z, Zhang L, Shi D et al. Synthesis, crystal structures and urease inhibitory activity of copper(II) complexes with Schiff bases. Inorg Chem Commun 2010; 13 (8): 996-998.*
32. *Dittes U, Vogel E, Keppler BK. Overview on bismuth(III) and bismuth(V) complexes with activity against Helicobacter pylori. Coordin Chem Rev 1997; 163: 345-364.*
33. *Dahlgren A, Glogard C, Gammelsaether M et al. Organobismuth compounds: Activity against Helicobacter pylori. Scan J Gastroentero 1999; 34 (2): 135-137.*
34. *Amtul Z, Follmer C, Mahboob S et al. Germa-gamma-lactones as novel inhibitors of bacterial urease activity. Biochem Bioph Res Co 2007; 356 (2): 457-463.*
35. *Xiao Z, Shi D, Li H et al. Polyphenols based on isoflavones as inhibitors of Helicobacter pylori urease. Bioorg Med Chem 2007; 15 (11): 3703-3710.*
36. *Matsubara S, Shibata H, Ishikawa F, Yokokura T, Takahashi M, Sugimura T, Wakabayashi K. Suppression of Helicobacter pylori-induced gastritis by green tea extract in Mongolian gerbils. Biochem Biophys Res Commun 2003; 310 (3):715-719.*
37. *Xiao Z, Ma T, Fu W, Peng X, Zhang A, Zhu H. The synthesis, structure and activity evaluation of pyrogallol and catechol derivatives as Helicobacter pylori urease inhibitors. Eur J Med Chem 2010; 45 (11): 5064-5070.*
38. *Xiao Z, Shi D, Li H, Zhang L, Xu C, Zhu H. Polyphenols based on isoflavones as inhibitors of Helicobacter pylori urease. Bioorg Med Chem 2007; 15 (11): 3703-3710.*

TEORETIČNE OSNOVE ^{13}C DIHALNIH TESTOV

THEORETICAL BASICS ^{13}C BREATH TEST

AVTOR / AUTHOR:
Suhadolc K, Sešek Briški A in Osredkar J

Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: josko.osredkar@kclj.si

POVZETEK

Dihalni test z uporabo stabilnega ogljikovega izotopa 13 (^{13}C) je neinvazivno diagnostično orodje, ki se uporablja v znanstvenih in kliničnih preiskavah številnih fizioloških in patofizioloških procesov. Temelji na merjenju obogatitve ogljika v izdihanem zraku ogljikovega dioksida po zaužitju testnega obroka, ki vsebuje označen ^{13}C v specifični funkcionalni skupini molekule. ^{13}C se v izdihanem zraku lahko meri z masnim spektrometrom za analitiko stabilnih izotopov in z nedisperzivno infrardečo spektrometrijo.

V članku sta predstavljena matematična modela, ki napovedujeta dinamiko razgradnje označenega substrata in s pomočjo katerih se nato izračuna polovični čas izločanja $^{13}CO_2$ in čas maksimalnega izločanja ogljikovega izotopa 13 ter koeficient praznjenja želodca.

Pomanjkljivost dihalnih testov je predvsem v standardizaciji obrokov in izotopov med posameznimi laboratoriji, zato so rezultati preiskav različni in njihova interpretacija je odvisna od posamezne ustanove, ki preiskavo izvaja. Z naraščanjem vrednosti v klinični uporabi, s standardizacijo metod, razvijanjem novih senzorjev in detekcijskih sistemov bodo v naslednjih letih dobili dihalni testi še širšo uporabnost.

ABSTRACT

Breath test using a stable isotope of carbon 13 (^{13}C) is a noninvasive diagnostic tool for applications in scientific and clinical research in many physiological and pathophysiological processes. The test is based on measuring the enrichment of carbon in carbon dioxide in exhaled air after ingestion of a test meal, which contains a labeled ^{13}C in one or more specific functional groups of the molecule. ^{13}C in exhaled air can be measured with the Isotope ratio mass spectrometry and Non-dispersive infrared spectrometry.

This paper presents two mathematical models that predict the degradation dynamics of the labeled substrate and from which is then calculated $^{13}CO_2$ half excterion time, the time of the maximal $^{13}CO_2$ excretion rate and the gastric emptying coefficient.

The problem with breath tests is that different laboratories use different dosages and types of ^{13}C sub-

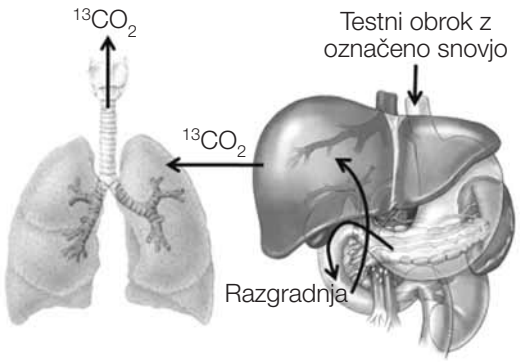
1 UVOD

Dihalni testi se v medicini uporabljajo za preiskovanje hlapnih organskih in anorganskih spojin v izdihanem zraku za oceno encimske oziroma metabolne funkcije, določitev diagnoze bolezni, spremljanje napredovanja bolezni in učinkovitosti terapije (1). Prvotno so testi temeljili na merjenju radioaktivnega ogljikovega izotopa 14, ki ima razpolovno dobo 5730 let in je bil strogo prepovedan za uporabo pri nosečnicah in otrocih. Danes pa se uporablja neradioaktivni ogljikov izotop 13 (^{13}C), ki je povsem neškodljiv, stabilen in je primeren za uporabo tudi pri otrocih, nosečnicah in doječih materah (2).

strates as well as different isotopes. Therefore, research results vary between laboratories and their interpretation depends on institution that conducted the investigation. With the increasing value in clinical use, standardization of the methods and by developing new sensor and detection systems in the coming years, a breath test will become even widely applicable.

Princip dihalnih testov temelji na zaužitju tekočega ali trdnega testnega obroka v katerega je vmešana snov, ki je označena z ogljikovim izotopom 13. Sestavine testnega obroka spodbudijo izločanje želenega preiskovanega encima, upočasnijo praznjenje želodca in podaljšajo kontaktni čas označene snovi z encimom. V črevesju se snov označena s ^{13}C razgradi v odvisnosti od količine aktivnega encima do različnih presnovkov in ^{13}C označenega ogljikovega dioksida ($^{13}CO_2$) (slika 1). Sproščen ogljikov dioksid se ne izloči direktno iz organizma z izdihanim zrakom, temveč najprej difundira v krvne žile iz preiskovanega organa in se prenese kot bikarbonat ($H^{12}CO_3^-/H^{13}CO_3^-$) v pljuča, kjer se sprosti le 40-70% celotnega $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku (3, 4). Preostali ^{13}C se vgradi v metabolne produkte (npr. ketonska telesca, aminokisline), zadrži v bikarbonatnih bazenih (pools), nekaj pa se ga ireverzibilno izgubi preko nerespiratornih poti (< 5% z blatom, ~1% transkutano, 1-3% z urinom) (5). Povečano razmerje med $^{13}CO_2$ in $^{12}CO_2$ v izdihanem zraku kaže na: (1) prisotnost encimske aktivnosti, (2) in količino prisotnega aktivnega encima v telesu ter (3) lahko odraža stopnjo fiziološkega procesa ali pa kaže na prisotnost tujka (npr. bakterije, encima…) (6).

Izdihan zrak pri odraslem človeku povprečno vsebuje 2-4% CO_2 z izotopskim razmerjem ^{12}C proti ^{13}C 99:1, vendar se dejanska koncentracija CO_2 povečuje glede na magnitudo izdihanega zraka (1, 8). Izotop ^{13}C vsebujejo vsa živila v različnih koncentracijah, zato je dejanska količina ^{13}C v izdihanem zraku odvisna od vrste in količine zaužite hrane.



Slika 1: Princip ^{13}C dihalnega testa. Test temelji na merjenju obogatitve ogljika v ogljikovem dioksidu v izdihanem zraku po zaužitju testnega obroka, ki vsebuje snov označeno s ^{13}C v eni ali več funkcionalnih skupin v molekuli (7).

Figure 1: Principle of the ^{13}C-labelled breath test. The test is based on measuring the enrichment of carbon in carbon dioxide in exhaled air after ingestion of a test meal, which contains a labeled ^{13}C in one or more specific functional groups of the molecule (7).

Povprečni dnevni vnos ^{13}C znaša med 2 in 3 grame, kar je veliko več, kot ga pacient zaužije pri preiskavi, saj ta odmerek znaša okrog 200 mg in je zato je le malo verjetno, da bi povzročil kakršnekoli neželene učinke pri preiskovancu (2). Količina $^{13}CO_2$, ki se sprosti iz označene testne snovi predstavlja le majhen delež naravno prisotnega $^{13}CO_2$, ki se ga lahko izmeri z masnim spektrometrom za analitiko stabilnih izotopov (IRMS - Isotope Ratio Mass Spectrometry) ali z nedisperzivno infrardečo spektrometrijo (NDIRS – Nondispersive infrared spectrometry). Slednja ima manjšo analitično natančnost kot masni spektrometer, vendar je cenejša in enostavnejša za uporabo (8, 12).

Dihalni testi z uporabo stabilnega izotopa ^{13}C so preprosta, varna in neinvazivna metoda, ki se uporabljajo pri znanstvenih in kliničnih preiskavah številnih fizioloških in patofizioloških procesov (3, 9). Dihalne teste se lahko uporabi za diagnostiko številnih bolezni (preglednica 1), vendar le

Preglednica 1: Aplikacije ^{13}C dihalnih testov v raziskavah in diagnostiki (10, 12).

^{13}C označen substrat	Aplikacije
Monosaharidi	Absorbcija, mikrosomalna biotransformacija
Oligo in polisaharidi	Hidroliza oligo in polisaharidov, funkcija pankreasa, cistična fibroza
Amino kisline	Razgradnja aminokislin, ocena hitrosti praznjenja želodca, delovanje jeter
Proteini	Razgradnja in resorpcija proteinov
Karboksilne kisline	Ocena hitrosti praznjenja želodca, miokardne metabolne preiskave, hepatična steatoza
Lipidi	Presnova maščob, malabsorpcija maščob
Ogljikova kislina	Okužba s *Helicobacter pylori*

redko pridejo v rutinsko klinično uporabo predvsem zaradi doseganja slabše občutljivosti in specifičnosti (8, 10). Izmed vseh dihalnih testov, ki so na tržišču je Ameriški urad za zdravila (angl. FDA-Food and Drug Administration) do danes odobril za klinično uporabo le dihalni test s ^{13}C označeno sečnino za diagnostiko okužbe s *Helicobacter pylori* v prebavnem traktu (11).

Dihalni testi so lahko kvalitativni ali kvantitativni. Kvalitativni pokažejo ali je pri bolniku prisotna bolezen, medtem ko kvantitativni test poda informacijo o njeni resnosti (1). Med seboj se razlikujejo tudi glede na čas izvedbe, število odvzetih vzorcev izdihanega zraka, čas ki poteče med vzetimi zaporednimi vzorci in metodo merjenja izotopske sestave (13).

2 POSTOPEK IZVEDBE DIHALNIH TESTOV

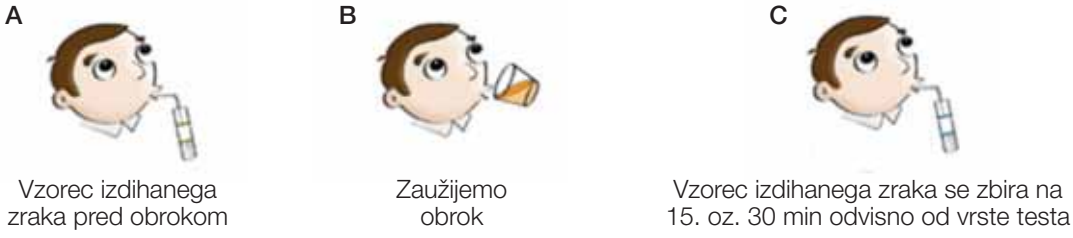
Pred izvedbo dihalnega testa mora biti preiskovanec tešč 12 ur, najbolje preko noči, med samim testom mora mirovati in ne sme kaditi, s čimer se izognemo hiperventilaciji, ki bi lahko vodila do napačne interpretacije rezultatov testa. Pije lahko le negazirano vodo, saj bi lahko raztopljen CO_2 vodil do sprememb v količini izdihanega ogljikovega dioksida in s tem do napačnih rezultatov testa. Najmanj teden dni pred izvedbo testa mora preiskovanec prenehati z jemanjem zdravil, ki bi lahko imela vpliv na rezultate testa. Če bi bilo potrebno test iz kakršnih razlogov ponoviti, ga lahko izvedemo šele naslednji dan. Vsa navedena navodila je potrebno natančno upoštevati, saj lahko vsaka nedoslednost pri izvedbi testa vodi do lažno pozitivnih ali lažno negativnih rezultatov (2).

Prvi vzorec izdihanega zraka se odvzame pred zaužitim testnim obrokom (čas 0 min) in je namenjen določitvi osnovne bazalne linije, ki predstavlja naravno prisoten $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku. Pri odvzemu vzorca preiskovanec počasi in enakomerno pihne skozi slamico v epruveto toliko zraka, da se le-ta orosi in jo takoj zamaši (slika 2A). Preiskovanec nato zaužije standardizirani tekoči ali trdni testni obrok odvisno od želene preiskave (slika 2B). Nato poteka nadaljni odvzem vzorcev po enakem postopku, največkrat v časovnem razmaku 15 oz. 30 min (slika 2C). Število vzorcev izdihanega zraka je odvisno od posamezne preiskave (12).

3 IZRAČUN REZULTATOV DIHALNIH TESTOV

Rezultati ^{13}C dihalnih testov so ponavadi podani kot odstotek izločenega ^{13}C v izdihanem zraku glede na čas (% ^{13}C/h) in kot odstotek kumulativne količine izločenega ^{13}C v merjenem času (% izdihanega ^{13}C) (13, 14, 15). Izračun omenjenih parametrov si bomo natančneje pogledali v nadaljevanju.

Meritve absolutnih vrednosti in izračunana absolutna razmerja so, zaradi številnih možnih napak pri merjenju, pogosto nenatančni (± 0,5%). Le z relativnimi meritvami proti standardu se lahko doseže zahtevano natančnost okrog ± 0,1%. Take meritve omogočajo IRMS in NIDRS, ki imajo vgrajen dvojni uvajalni sistem, s katerim se izmenoma meri vzorec in standard (16). Rezultat meritev je relativna vrednost izotopske sestave izražena z vrednostjo delta (δ), ki predstavlja relativno razliko (presežek) izotopske sestave preiskovanega vzorca glede na izbrani standard in je izražena v promilih ‰ (enačba 1). Delta vrednost (δ) vsakega standarda je definirana z vrednostjo 0‰. Pozitivne vrednosti δ pomenijo višje izotopsko razmerje R v vzorcu v primerjavi s standardom, negativne vrednosti pa nižje izotopsko razmerje v primerjavi s standardom.



Slika 2: Postopek izvedbe ^{13}C dihalnih testov
Figure 2: Procedure of the ^{13}C breath test

$$\delta^{13}C_{vz} = \frac{R_{vz} - R_{st}}{R_{st}} \cdot 1000 \ [‰] \quad (1)$$

V enačbi 1 vrednost R_{vz} predstavlja razmerje med izotopoma ^{13}C in ^{12}C v preiskovanem vzorcu, R_{st} pa razmerje med izotopoma ^{13}C in ^{12}C v izbranem standardu (12, 17, 18).

Standardi so točno določene homogenizirane naravne spojine. Izbrani so tako, da so izotopska razmerja čim bolj podobna povprečni razširjenosti določenega izotopa v naravi (20). Mednarodne standarde določata Mednarodna agencija za jedrsko energijo na Dunaju (IAEA - International Atomic Energy Agency) in Nacionalni inštitut za standarde in tehnologijo iz ZDA (NIST - National Institute of Standards and Technology). Za ogljik je bil privzet karbonatni standard fosila *Belemnitelle americana* iz kredne formacije PeeDee v Južni Karolini (PDB - Pee Dee Belemnite) z vrednostjo R, ki znaša 0,0112372 PDB (12, 19, 20). Zaradi premajhne količine PDB v naravi so izdelali umetni karbonat z enako izotopsko sestavo in ga poimenovali Vienna PeeDee Belemnite (VPDB), zato se vsi rezultati podajajo glede na to vrednost (18). Izotopsko razmerje se ob prisotnosti aktivnega encima po zaužitju testnega obroka znatno poveča, pri zmanjšani aktivnosti encima je povečanje manjše in v primeru neaktivnega oz. odsotnega encima ostane razmerje nespremenjeno v primerjavi z izmerjenim razmerjem pred zaužitjem testnega obroka. Delež ^{13}C v izdihanem zraku se za vsak vzorčen čas izračuna po naslednji enačbi:

$$\%^{13}C_{t_i} = \frac{\frac{\delta^{13}C_{t_i}}{1000} + 1}{\frac{1}{0{,}0112372} + \frac{\delta^{13}C_{t_i}}{1000} + 1} \cdot 100 \quad (2)$$

V enačbi 2 $\delta^{13}C_t$ predstavlja relativno razliko izotopske sestave preiskovanega vzorca glede na izbrani standard (izračuna po enačbi 1) in 0,0113272 predstavlja razmerje $^{13}C/^{12}C$ v karbonatnem standardu za ogljik v fosilu *Belemnitelle americana* iz kredne formacije PeeDee (12, 17).

Pri izračunu deleža ^{13}C v izdihanem zraku je potrebno upoštevati tudi meritev bazalne linije pred zaužitjem testenega obroka, ki odstrani vpliv endogeno prisotnega $^{13}CO_2$. Delež izotopa v izdihanem zraku z upoštevanjem meritve bazalne linije se izračuna po enačbi 3.

$$\%^{13}C_t = \%^{13}C_{t_i} - \%^{13}C_{t_0} \quad (3)$$

V enačbi 3 % $^{13}C_{ti}$ predstavlja delež izotopa v izdihanem zraku ob času t_i in % $^{13}C_{t0}$ delež izotopa v izdihanem zraku ob meritvi bazalne linije (t_0) pred zaužitim testnim obrokom (12, 15, 17).

Hitrost razgradnje označenega substrata glede na zaužito količino in čas, se izračuna po naslednji enačbi:

$$\%^{13}C/h = \frac{\frac{\%^{13}C_t}{100} \cdot V_{CO_2}}{\frac{\%^{13}C_{sub} - \%^{13}C_{t_0}}{100} \cdot \frac{m_{sub}}{M_{sub}}} \cdot 100\% \quad (4)$$

V enačbi 4 $\%^{13}C_t$ predstavlja delež izotopa ^{13}C v izdihanem zraku v času t po zaužitju testnega obroka, $\%^{13}C_{sub}$ delež izotopa ^{13}C v zaužitem substratu, ki je ponavadi 99 %, % $^{13}C_{t0}$ pa delež izotopa ^{13}C v izdihanem zraku ob meritvi bazalne linije ob času t_0 pred zaužitim testnim obrokom, Vco_2 volumen izdihanega ogljikovega dioksida izražen v mmol/h/m^2, m_{sub} maso zaužitega testnega substrata izraženo v mg in M_{sub} molsko maso označenega substrata izraženo v g/mol (15, 17, 21).

Za izračun hitrosti razgradnje označenega substrata je potrebno poznati volumen izdihanega ogljikovega dioksida (Vco_2), saj se oksidiran $^{13}CO_2$ iz zaužitega substrata razredči z endogenim CO_2 iz metabolizma. Preiskovanci morajo med izvedbo testa mirovati, da ne pride do povečanega izločanja CO_2, kar bi vodilo do zmanjšane koncentracije ^{13}C v izdihanem zraku in tako tudi do napačne interpretacije rezultatov (21).

Volumen izdihanega ogljikovega dioksida je pri odraslem človeku v mirovanju, ocenjen s 5 mmol/min/površino telesa (m^2) in se ga izračuna po enačbi 5 (13, 17). Pri izračunu volumna ogljikovega dioksida pa je potrebno upoštevati tudi telesno površino (BSA - Body Surface Area), ki se jo izračuna iz podatkov o telesni teži izraženo v kilogramih in telesni višini izraženo v centimetrih po enačbi 6 (13, 17). Volumen izdihanega CO_2 se lahko izračuna tudi iz bazalnega metabolizma (BMR-Basal Metabolic Rate) in iz frekvence srčnega utripa ali pa se ga določi s pomočjo indirektne kalorimetrije (21).

$$V_{CO_2} = BSA(m^2) \cdot 5mmol/\min/m^2 \cdot 60\min/h \quad (5)$$

V enačbi 5 V_{CO2} pomeni volumen izdihanega ogljikovega dioksida in BSA telesno površino, ki se jo izračuna po enačbi 6.

$$BSA(m^2) = \sqrt{\frac{m(kg) \cdot h(cm)}{3600}} \quad (6)$$

V enačbi 6 parameter m predstavlja telesno maso izraženo v kilogramih in h telesno višino izraženo v centimetrih (13).

Kumulativna količina izločenega ^{13}C izražena v odstotkih se izračuna po enačbi 7 in je definirana kot celotna količina ^{13}C, ki se izloči v izdihanem zraku v določenem času, glede na količino vnesenega ^{13}C s testnim obrokom.

$$kumulativni\ ^{13}C\ (t_i)\ [\%] = \sum_i \frac{\%^{13}C/h\ (t_i) + \%^{13}C/h\ (t_{i-1})}{2} \cdot \frac{(t_i - t_{i-1})}{60} \quad (7)$$

V enačbi 7 oznaka $\%^{13}C/h\ (t_i)$ predstavlja delež izotopa ^{13}C v izdihanem zraku v času t_i in $\%\ ^{13}C/h\ (t_{i-1})$ delež izotopa ^{13}C v izdihanem zraku v času t_{i-1} po zaužitju testnega obroka, ki se ju izračuna po enačbi 4. t_i in t_{i-1} predstavlja čas izražen v urah pri katerem se izloči delež izotopa ^{13}C v izdihanem času (22).

Izločen kumulativni ^{13}C nikoli ne doseže 100%, ker se določen delež ^{13}C zadrži v telesu v obliki bikarbonata ali pa se vključi v druge metabolne cikle kot je cikel trikarboksilnih kislin (9).

4 KINETIKA PRESNOVE TESTNEGA SUBSTRATA

Kinetika presnove substrata oz. stopnja praznjenja želodca je opisana s polovičnim časom izločanja ^{13}C ($t_{1/2}$), s časom maksimalnega izločanja ^{13}C (t_{max}) in s koeficientom praznjenja želodca (GEC) (14, 15). Omenjene parametre se lahko izračuna z uporabo dveh različnih matematičnih modelov, ki napovedujeta dinamiko razgradnje označenega substrata in jih je prvi opisal Ghoos leta 1993 (13, 22). Koeficient praznjenja želodca in čas maksimalnega izločanja se izračuna iz krivulje, ki opisuje delež izdihanega ^{13}C v odvisnosti od časa in polovični čas izločanja pa iz krivulje, ki opisuje kumulativno količino izločenega ^{13}C z izdihanim zrakom (5, 14).

Pri obeh modelih gre za simulacijo eksperimentalnih podatkov z ustreznim matematičnim modelom. Eksperimentalne podatke opišemo z matematično enačbo v obliki *Y = f(x)*, kjer je X neodvisna spremenljivka, Y odvisna spremenljivka in f funkcija, ki vključuje enega ali več parametrov za opis podatkov.

Prvi matematični model izhaja iz χ^2 porazdelitve (enačba 8) in opiše krivuljo izdihanega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa ($\%^{13}CO_2/h$).

$$y(t) = a \cdot t^b \cdot e^{-ct} \quad (8)$$

V enačbi 8 t predstavlja čas merjen v urah; a, b in c pa so parametri, ki se jih pridobi z nelinearno regresijsko analizo (13, 14, 15).

Stopnjo praznjenja želodca (GEC- angl. gastric emptying coefficient) se izračuna po enačbi 9. Večja kot je stopnja praznjenja želodca, hitrejše je praznjenje vsebine želodca (13, 14, 15).

$$GEC = \ln a \quad (9)$$

V enačbi 9 parameter a predstavlja konstanto, ki se jo izračuna z nelinearno regresijsko analizo.

Polovični čas izločanja ($t_{1/2}$) in čas maksimalnega izločanja (t_{max}) ^{13}C v izdihanem zraku se izračunata po enačbi 10 in 11 (15). Polovični čas izločanja ^{13}C, je čas izražen v minutah, ko se presnovi polovica količine označenega substrata, kar je grafično prikazano na sliki 3 (14, 15).

$$t_{1/2} = \Gamma^{-1}(0{,}5; b+1; 1/c) \quad (10)$$

V enačbi 10 Γ^{-1} predstavlja inverzno gama funkcijo ter b in c konstanti, ki se ju izračuna z nelinearno regresijsko analizo.

Čas maksimalnega izločanja ^{13}C (t_{max}) ponazarja stanje pretoka v želodcu in je grafično prikazan na sliki 3. Ko je izločanje $^{13}CO_2$ maksimalno, zapusti želodec več kot 80% želodčne vsebine (14, 15).

$$t_{max} = \frac{b}{c}\ [min] \quad (11)$$

Drugi matematični model pa izhaja iz Siegelove funkcije, ki posnema retenzijsko scintigrafsko krivuljo modificirano za korekcijski faktor m (enačba 12). Model opiše kumulativno količino ^{13}C v izdihanem zraku, ki je definirana kot celotna količina ^{13}C, ki se izloči v izdihanem zraku v določenem času, glede na količino vnesenega ^{13}C s substratom.

$$z(t) = m(1 - e^{-kt})^{\beta} \quad (12)$$

V enačbi 12 z predstavlja kumulativno količino izdihanega $^{13}CO_2$ v določenem času, t je čas merjen v urah, m celotno kumulativno količino $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku, ko je čas neskončen, parametri m, k in β so ocenjene regresijske konstante (13, 14, 23).

Parametre m, k in β ter a, b in c se pridobi z nelinearno iterativno metodo najmanjših kvadratov s pomočjo Excell-ovega programa Reševalec (Solver). Reševalec je matematično orodje, ki poizkuša med eksperimentalnimi in teoretičnimi podatki zmanjšati razliko kvadratov na minimum, pri tem pa spreminja parametre funkcije. Pri vsakem koraku izračuna nove vrednosti za matematično funkcijo in primerja razliko kvadratov s prejšnjo vrednostjo. Postopek se ponavlja dokler ne doseže minimuma. Reševanja se loti s posplošeno reducirano metodo gradientov (GRG - Generalized Reduced Gradient method). Naloga Reševalca je torej, da najde vrednosti vhodnih spremenljivk, ki dajo najboljšo vrednost ciljne funkcije. To pomeni najboljšo rešitev modela (24, 25).

Pri obeh matematičnih modelih je potek reševanja podoben. Natančneje pa bomo opisali postopek za drugi model. Najprej je potrebno izračunati odvod funkcije (enačba 13), ki teoretično opiše krivuljo izločanja ^{13}C z izdihanim zrakom v odvisnosti od časa.

$$z'(t) = mk\beta e^{-kt}(1 - e^{-kt})^{\beta - 1} \quad (13)$$

V enačbi 13 parametri m, k in β predstavljajo regresijske konstante in t čas merjen v urah (13, 14, 23, 24).

Nato z oceno začetnih vrednosti parametrov *m*, *k* in *β* na podlagi predhodnih izkušenj ali pa na smiselnem ugibanju, ki temelji na poznavanju uporabljene funkcije za opis podatkov, pridobi krivuljo, ki se čim bolj prilega rezultatom dihalnega testa. Z metodo najmanjših kvadratov se izračuna napako med eksperimentalno dobljeno količino ^{13}C v izdihanem zraku, ki se jo izračuna po enačbi 4 (%^{13}C/h) in teoretično pridobljeno količino ^{13}C v izdihanem zraku, ki se jo izračuna po enačbi 13 (% ^{13}C/h). Z nelinearno regresijo se s programom Reševalec izračuna natančnejše vrednosti konstant m, k in β, tako da je napaka med eksperimentalnimi in teoretičnimi rezultati čim manjša. Te vrednosti se vstavi v enačbo 12 in se izračuna teoretični delež kumulativnega ^{13}C v izdihanem zraku. S pomočjo programa Reševalec se določi nove vrednosti konstant m, k in β v enačbi 12, tako da je napaka med teoretičnimi in eksperimentalnimi deleži kumulativnega ^{13}C v izdihanem zraku čim manjša, kar pomeni da se krivulja, ki opisuje kumulativno količino ^{13}C v izdihanem zraku čim bolj prilega eksperimentalno dobljenim podatkom. Na novo pridobljene vrednosti konstant k in β lahko sedaj uporabimo za izračun polovičnega časa praznjenja želodca ($t_{1/2}$) po enačbi 14 (13, 14, 23, 24) in maksimalnega časa izločanja ^{13}C (t_{max}) po enačbi 15 (14, 23, 24), ki sta tudi grafično prikazana na sliki 3. Oba prametra sta določena z obliko krivulje in tako neodvisna od endogeno proizvedenega CO_2 (24).

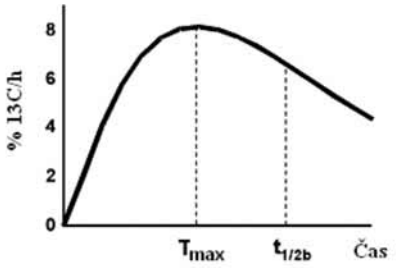
$$t_{1/2} = -\frac{[\ln(1 - 2^{-1/\beta})]}{k} \quad (14)$$

$$t_{max} = \frac{\ln \beta}{k} \quad (15)$$

Krajši t_{max} ali $t_{1/2}$ pomeni hitrejše praznjenje želodca. Vrednosti parametra β, ki so večje od 1, označujejo zakasnjeno praznjenje želodca (počasnejša rast krivulje), vrednosti manjše od 1 pa pomenijo hitro praznjenje želodca (hitrejša rast krivulje) (14, 26). Večje vrednosti parametra k pomenijo hitrejšo rast kumulativne krivulje, medtem ko manjše vrednosti pomenijo bolj postopno rast krivulje (23, 26).

Tabela 1: Prikazuje čas praznjenja želodca za tekoče in trdne substrate (27).
Table 1: Shows the $^{13}CO_2$ half excretion time and the time of maximal $^{13}CO_2$ excretion rate for liquid and solid meal (27).

Čas praznjenja želodca	Zmanjšano	Normalno	Zakasnjeno	Zelo zakasnjeno
Tekoči substrat				
t_{max} [min]	< 25	22-25	55-80	> 80
$t_{1/2}$ [min]	< 35	35-80	80-120	> 120
Trdni substrat				
t_{max} [min]	< 50	50-100	100-150	> 150
$t_{1/2}$ [min]	< 75	75-135	135-200	> 200



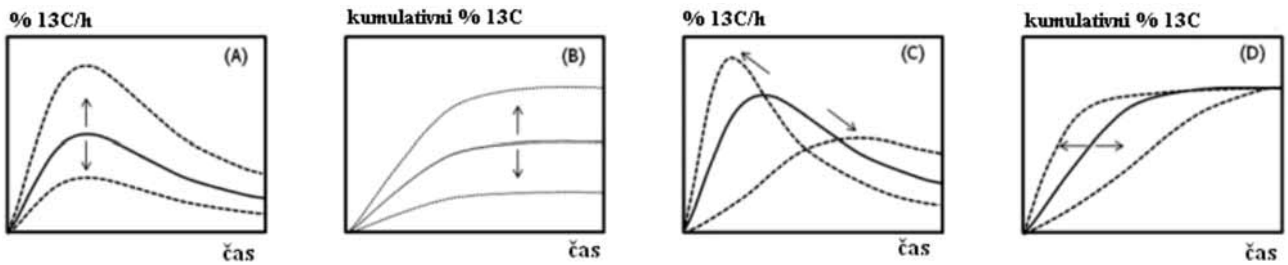
Slika 3: Prikazuje polovični čas izločanja in čas maksimalnega izločanja ^{13}C (24).
Figure 3: Shows the $^{13}CO_2$ half excretion time and the time of maximal $^{13}CO_2$ excretion rate (24).

5 INTERPRETACIJA PARAMETROV DIHALNIH TESTOV

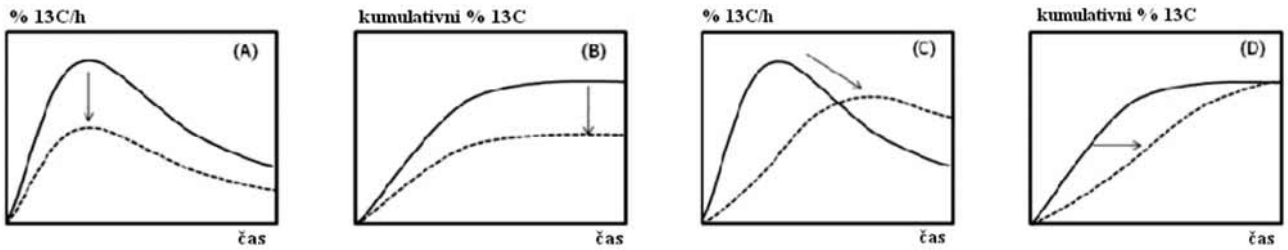
V matematičnem modelu konstanti a in m določata višino krivulje, ki opisuje delež izdihanega in kumulativnega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa (slika A in B) oz. predstavljata količino izločenega $^{13}CO_2$ z izdihanim zrakom. Konstante k, β, b in c pa določajo obliko krivulje, ki opisuje delež izdihanega in kumulativnega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa (slika C in D) oz. predstavljajo hitrost izločenega $^{13}CO_2$ z izdihanim zrakom. Na količino oz. hitrost izločenega $^{13}CO_2$ z izdihanim zrakom vpliva tako izguba kot tudi zadrževanje $^{13}CO_2$ v telesu (14).

Kadar je praznjenje označenega substrata iz želodca pospešeno se poveča tako količina (slika 4A in 4B) kot tudi hitrost izločanja $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku (slika 4C in 4D). Ko se količina izločenega $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku poveča, se krivulji ki opisujeta delež izdihanega in kumulativnega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa zvišata, pri tem pa oblika krivulje ostane nespremenjena, kar je prikazano na sliki 4A in 4B. Če pa se poveča hitrost praznjenja želodca, potem krivulja ki opisuje delež izdihanega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa postane bolj strma, površina pod njo pa ostane nespremenjena (slika 4C). Krivulja, ki opisuje delež kumulativnega $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku v odvisnosti od časa, se bo premaknila na desno, končna količina $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku pa ostane nespremenjena. Kadar je praznjenje želodca konstantno, izguba in zadrževanje $^{13}CO_2$ v telesu, vplivata na količino in hitrost izločanja z izdihanim zrakom in s tem na rezultate dihalnih testov (14).

Kot je bilo že omenjeno, povečanje količine $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku glede na izhodiščno koncentracijo, odraža preiskovano funkcijo. Vendar pa je izmerjen le končni produkt $^{13}CO_2$, ki ne pove nobene informacije o zalogi in tokovih označenega substrata in njegovih presnovkov. Vsaj pri prirojenih napakah metabolizma, verjetno pa pri katerikoli bolezni, je potrebno predvidevati, da so ti rezervoarji in tokovi bistveno spremenjeni. Tako tudi izguba in zadrževanje $^{13}CO_2$ v telesu vplivata na kinetiko metabolizma in tako na parametre dihalnega testa kot so GEC, t_{max} in $t_{1/2}$. In sicer, če se količina izgubljenega $^{13}CO_2$ poveča, npr. z vezavo na druge presnovke v telesu, se količina le tega v izdihanem zraku zmanjša, kar je prikazano na sliki 5A in 5B z znižanjem krivulj, ki opisujeta delež izdihanega in kumulativnega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa. Oblika obeh krivulj ostane enaka, kar pomeni da se hitrost izločanja $^{13}CO_2$ pri tem ne spreminja. Pri tem se GEC zmanjša, čeprav t_{max} in $t_{1/2}$ ostaneta enaka. Zaradi vezave $^{13}CO_2$ na druge presnovke v telesu se ga v izdihanem zraku izloči kar za 50% manj. Po drugi strani pa, če se čas zadrževanja $^{13}CO_2$ v bikarbonatnem rezervoarju v telesu podaljša, postaneta krivulji, ki opisujeta delež izdihanega in kumulativnega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa, bolj ploščati, kar pomeni da se hitrost izločanja ^{13}C upočasni pri tem pa površina pod krivuljama



Slika 4: Vpliv količine in hitrosti $^{13}CO_2$ v izdihanem zraku na višino in obliko krivulje, ki opisuje delež izdihanega in kumulativnega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa (3).
Figure 4: Influence of the amount and velocity of $^{13}CO_2$ in exhaled air on the hight and shape of percent dose recovery and cumulative recovery curves (3).



Slika 5: Vpliv izgube in zadrževannja $^{13}CO_2$ v telesu na kinetiko izločanja (14).
Figure 5: Effects of the loss and the retention of $^{13}CO_2$ on the breath test resoults (14).

ostane nespremenjena (slika 5C in 5D). Kot posledica zadrževanja se krivulji, ki opisujeta delež izdihanega in kumulativnega $^{13}CO_2$ v odvisnosti od časa, pomakneta nižje v desno stran kot je prikazano na sliki 5C in 5D. Ob podaljšanem zadrževanju $^{13}CO_2$ v telesu se zmanjša tudi GEC, $t_{1/2}$ in t_{max} pa se podaljšata (5, 14).

Zanesljivost izračunanih parametrov dihalnih testov je odvisno od tega, kako dobro se eksperimentalni podatki $^{13}CO_2$ prilegajo posamznemu matematičnemu modelu. To nam pokaže koeficient korelacije, ki mora biti večji od 0,9 drugače se test zavrne. Na dobro prileganje krivulje eksperimentalnim podatkom, zelo vpliva tudi čas dihalnega testa in sicer krajši kot je čas testa, slabše je prileganje krivulje (14).

Meje dihalnih testov s katerimi se določi normalna ali patološka aktivnost preiskovanega organa, ponavadi določi vsak laboratorij zase, glede na rezultate analiziranih kontrolnih skupin. Na podlagi teh rezultatov se nato izračuna spodnjo in zgornjo mejo intervala zaupanja (po navadi se določi 95%) in pomeni interval v katerem se z dano gotovostjo nahaja ocenjevani parameter.

6 ZAKLJUČEK

Problem dihalnih testov je, da pri njihovi izvedbi različni laboratoriji uporabljajo različne količine in vrste hrane kot tudi različne izotope. Zato se rezultati preiskav med seboj razlikujejo in je njihova interpretacija odvisna od ustanove, ki preiskavo izvaja. Potrebno bi bilo standardizirati postopke glede količine zaužitega označenega ^{13}C substrata, količine in sestave testnega obroka, časa izvedbe testa, pogostosti jemanja vzorcev izdihanega zraka, metode zbiranja vzorcev in metode merjenja izotopskega razmerja $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ (laser, infrardeča in masna spektroskopija). Standardni protokoli bodo omogočali primerjavo rezultatov ^{13}C dihalnih testov med različnimi raziskovalnimi laboratoriji in omogočili lažjo interpretacijo za klinično diagnozo ali za spremljanje poteka zdravljenja.

Pri prirojenih napakah metabolizma, verjetno pa pri katerikoli bolezni, je potrebno predvidevati, da so rezervoarji in tokovi $^{13}CO_2$ bistveno spremenjeni. V takih primerih imajo izračuni majhno napovedno moč, zato je za postavitev pravilne diagnoze potrebno uporabiti invazivne metode. Za natančen izračun parametrov dihalnih testov je prav tako potreben izračun bazalnega metabolizma (BMR-angl. basal metabolic rate) in dejanski endogeno proizveden CO_2 pri preiskovancu, kar v večini primerov ni znano. Težko je vzdrževati stabilno endogeno količino proizvedenega CO_2, še posebno pri mlajših otrocih, ki so težko pri miru ali pri novorojenčkih in majhnih otrocih, ki se bodo upirali odvzemu vzorcev izdihanega zraka. Te omejitve so vzrok, zakaj dihalni testi še niso dosegli rutinske klinične uporabe, še posebno pri diagnostiki motenj delovanja jeter ali prirojenih napakah metabolizma.

Glede na njihovo preprosto izvedbo in neinvazivnost bodo ^{13}C dihalni testi v prihodnosti postali nepogrešljivo orodje v kliničnih raziskavah in diagnostiki, predvsem pri prehranskih preiskavah, diagnostiki gastrointetstinalnih bolezni in motnjah v metabolizmu. Število substratov in s tem različnih vrst testov iz leta v leto narašča.

7 REFERENCE

1. *Rubin T, von Haimberger T, Helmke A, Heyne K. Quantitative determination of metabolization dynamics by a real-time 13CO2*

breath test. J Breath Res. 2011; 5(2):027102. Epub 2011 Apr 19.
2. Malferheiner P. Expert report on the clinical documentation for the product Pylori 13, Medical Instruments Corporation; PartIC3
3. Lock JF, Taheri P, Bauer S, Holzhütter HG, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Interpretation of Non-Invasive Breath Tests Using 13C-labeled Substrates - A Preliminary Report With superset13 C-Methacetin. Eur J Med Res. 2009; 14(12):547-50.
4. Jackson SJ, Bluck LJ. Measurment of gastric emtying by octanoate metabolism. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2005;8(5):538-44.
5. Sanaka M, Yamamoto T, Kuyama Y. Retention, fixation and loss of the 13C label: a review for the understanding of gastric emptying breath tests. Dig Dis Sci. 2008; 53(7):1747-56. Epub 2008 Feb 29.
6. Klein PD. 13C breath tests: visions and realities. Journal of Nutrition 2001; 131: 1637S-1642S.
7. Domínguez-Muñoz JE. Pancreatic exocrine insufficiency: diagnosis and treatment. J Gastroenterol Hepatol. 2011;26 Suppl 2:12-6.
8. Vogt JA, Wachter U, Mehring J, Radermacher P, Georgieff M, Fischer H, Hölscher U, Moede M, Fabinski W. Adaptation of the NDIR technology to 13CO2 breath tests under increased inspiratory O2 concentrations. J Appl Physiol. 2009;107(1):302-7. Epub 2009 May 14.
9. Berthold HK, Giesen TA, Gouni-Berthold I. The stable isotope ketoisocaproic acid breath test as a measure of hepatic decarboxylation capacity: a quantitative analysis in normal subjects after oral and intravenous administration. Ioanna Gouni-Berthold, 2009; 29 (9): 1356–1364.
10. Fischer H, Wetzel K. The future of 13C breath tests. Food Nutr Bull. 2002;23(3 Suppl):53-6.
11. Paschke KM, Mashir A, Dweik RA. Clinical applications of breath testing. F1000 Med Rep. 2010; 22;2:56.
12. Recent Results of the Development and Application of 13C–Breath Tests. 1st edition 1999, Fischer ANalysen Instrumente GmbH (FAN), Leipzig. http://www.fan-gmbh.de/docs/13c_recent_results.pdf
14. Wetzel K, Fischer H, 13C–Breath Tests in Medical Research and Clinical Diagnosis 2005. 4st – Edition, Fischer ANalysen Instrumente GmbH (FAN), Leipzig. http://www.fan-gmbh.de/docs/13c_recent_results.pdf
15. Sanaka M, Nakada K. Stable isotope breath tests for assessing gastric emptying: A comprehensive review. J Smooth Muscle Res. 2010;46(6):267-80.
16. Kasicka JA, Kamińska M, Jonderko K, Setera O, Błońska FB. Short- and medium-term reproducibility of gastric emptying of a solid meal determined by a low dose of 13C-octanoic acid and nondispersive isotope-selective infrared spectrometry. World J Gastroenterol. 2006 Feb 28;12(8):1243-8.
17. Pezdič J. Izotopi in geokemijski procesi. Univerzitetni učbenik, Univerza v Ljubljani, Naravoslovnotehniška fakulteta, Oddelek za geologijo. 1999, str. 11, Ljubljana http://www.geo.ntf.uni-lj.si/jpezdic/Izotopi_1.del.pdf
18. Gastric motility breath test. Site Manual. Version 3.0 January 15, 2008. Metabolic Solutions Inc. http://www.stableisotopeanalysis.com/docs/GMBT_Site_Manual_Version_2008.pdf
19. Werner RA, Brand WA. Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. Rapid Commun Mass Spectrom. 2001;15(7):501-19.
20. Craig H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass spectrometric analysis of carbon dioxide. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1957: 12(1-2), 133-149.
21. Engel MH, Macko SA. Organic geochemistry: Principles and applications. 1993 New York, London, Plenum Press: 861 str.
22. Slater C, Preston T, Weaver LT. Improving the specificity of the [13C]mixed triacylglycerol breath test by estimating carbon dioxide production from heart rate. Eur. J. Clin Nutr, 2006, 60(11):1245-52. Epub 2006 May 31.
23. Ghoos YF, Maes BD, Geypens BJ, Mys G, Hiele MI, Rutgeerts PJ, Vantrappen G. Measurement of gastric emptying rate of solids by means of a carbon-labeled octanoic acid breath test. Gastroenterology, 1993, 104(6):1640-7.
24. Berthold HK, Giesen TA, Gouni-Berthold I. The stable isotope ketoisocaproic acid breath test as a measure of hepatic decarboxylation capacity: a quantitative analysis in normal subjects after oral and intravenous administration. Liver Int. 2009; 29(9):1356-64.
25. Perri F, Pastore MR, Annese V. 13C-octanoic acid breath test for measuring gastric emptying of solids. European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2005; 9(Suppl 1): 3-8.
26. Brown AM. A step-by-step guide to non-linear regression analysis of experimental data using a Microsoft Excel spreadsheet. Comput Methods Programs Biomed. 2001 Jun;65(3):191-200.
27. Siegel JA, Urbain JL, Adler LP et al. Biphasic nature of gastric emptying. Gut 1988; 29: 85–9.
28. 13C-Gastric emptying breath tests. Wagner Analysen Technik GmbH www.wagner-bremen.de/Seite32.pdf

SAMO-ZDRAVLJENJE AKUTNE DRISKE PRI OTROKU

SELF-MEDICATION OF ACUTE DIARRHOEA IN CHILDREN

AVTOR / AUTHOR:
Bojan Madjar, mag.farm.

Javni zavod Pomurske lekarne, Kocljeva 2
Murska Sobota

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
Email: bojan.madjar@pomurske-lekarne.si

POVZETEK
Akutna driska je pri otrocih, posebno mlajših od treh let, zelo pogosta zdravstvena težava. V večini primerov je blage oblike in samoomejujoča, ki ne zahteva zdravniške obravnave ali celo hospitalizacije. Lekarniški farmacevti imamo pomembno vlogo pri svetovanju glede ustreznega načina samozdravljenja, kakor tudi prepoznavanja otrok z akutno drisko, ki potrebujejo zdravniško pomoč, saj se v redkih primerih lahko razvije v življenje ogrožajoče stanje. V pomoč nam je lahko protokol, ki smo ga pripravili na podlagi priporočil Lekarniške zbornice Slovenije, upoštevaje procesni model, ko oseba želi nasvet za simptom.

KLJUČNE BESEDE:
akutni gastroenteritis, otrok, dehidracija, samozdravljenje, protokol

POVZETEK
Acute diarrhoea in children is very common health problem, especially those younger than three years. It is generally a relatively mild and self-limiting condition that does not require medical treatment or even hospitalization. Community pharmacy pharmacists have an important role in advising on the appropriate method of self-medication, as well as the identification of children with acute diarrhoea in need of medical assistance because it may occasionally evolve into a serious illness. Protocol which can help us by appropriate counseling was prepared on the basis of recommendations of Slovene Chamber of Pharmacy, which includes a process model for when a person needs advice about his or her symptoms.

KLJUČNE BESEDE:
acute gastroenteritis, child, dehydration, self-medication, protocol

1 UVOD

1.1 DEFINICIJA IN KLINIČNA SLIKA AKUTNE DRISKE

Akutna driska ali akutni gastroenteritis je definirana kot zmanjšana konsistenca blata (mehko ali tekoče blato) in/ali povečanje frekvence odvajanja blata (≥ 3-krat v 24 urah) z ali brez vročine ali bruhanja. Akutna driska običajno traja manj kot 7 dni in ne več kot 14 dni. Predvsem v prvih mesecih življenja je bolj kot število odvajanj pomembna sprememba konsistence blata (1, 2).

Drisko lahko spremlja povišana telesna temperatura, ki lahko, posebno ob bakterijskem povzročitelju, preseže tudi 40°C. Bakterijske trebušne okužbe običajno spremljajo močnejše bolečine v trebuhu, prizadetost osrednjega živčevja (razdražljivost, brezvoljnost, epileptični napadi ali koma) in včasih prisotnost krvi v blatu. Bruhanje se pogosteje pojavi pri virusno povzročeni akutni driski in običajno traja dan, dva ter pri večini otrok poneha po treh dneh.

Poleg bruhanja kažejo na virusno etiologijo tudi simptomi dihal (rinoreja, kašelj). Kombinacija kliničnih znakov sicer ne napove zanesljivo bakterijske ali virusne etiologije (3).

1.2 EPIDEMIOLOGIJA AKUTNE DRISKE PRI OTROKU

Akutna driska je zelo pogosto bolezensko stanje v otroški dobi, predvsem v prvih treh letih življenja. Dojenčke in malčke praviloma prizadene 1-krat do 2-krat letno (3). Pogosteje se pojavlja v določenih obdobjih v letu, najpogosteje med oktobrom in aprilom, ko je največ okužb z rotavirusi in drugimi virusni povzročitelji in doseže vrh pojavljanja v času od januarja do marca. Bakterijski povzročitelji, ki so redkeje vzrok za akutno drisko, povzročajo drisko skozi vse leto z vrhovoma med majem in junijem ter septembrom in oktobrom (4).

1.3 ETIOLOGIJA AKUTNE DRISKE PRI OTROKU

Najpogostejši povzročitelj akutne driske pri otrocih so virusi (rotavirus, norovirus, adenovirus, calicivirus). Med bakterijskimi povzročitelji, ki so sicer redkejši kot virusni, so v Evropi in tudi v Sloveniji najpogostejši *Campylobacter* in *Salmonella,* redkeje *Escherichia coli, Yersinia* in *Shigella.* Še redkejše so pri nas okužbe s paraziti (*Cryptosporidium, Giardia lamblia*).

Vzrok driske je lahko tudi neinfekcijski, kamor prištevamo zdravila (antibiotiki), alergijo na hrano (alergija na beljakovine kravjega mleka), motnje prebave in absorpcije (laktozna intoleranca), pomanjkanje vitaminov (niacin) ali zaužitje težkih kovin (baker, cink) (5).

1.4 DEHIDRACIJA KOT NAJRESNEJŠI ZAPLET AKUTNE DRISKE PRI OTROKU

Dehidracija je najbolj resen zaplet driske, ki se lahko razvije hitro, posebno pri mlajših otrocih, in je najpogostejši vzrok hospitalizacij otrok z akutno drisko. Izguba vode in elektrolitov zaradi driske, ki je ob sočasnem bruhanju še povečana, lahko pripelje do acidoze, odpovedi cirkulacije, zmanjšane prekrvavitve vitalnih organov, ledvične odpovedi in smrti. V Evropi je večina primerov akutne driske blage do srednje težke stopnje, smrtni primeri so zelo redki.

Najboljši način za oceno dehidracije je izračun odstotka izgube telesne mase, na podlagi česar, glede na priporočila Svetovne zdravstvene organizacije (SZO), razvrščamo bolnike v tri skupine:

- brez ali z minimalno dehidracijo (< 3% izgube telesne mase),
- z blago do zmerno dehidracijo (3 – 9 % izgube telesne mase),
- s hudo dehidracijo (> 9 % izgube telesne mase) (6).

2 UGOTAVLJANJE BOLNIKOVEGA PROBLEMA IN ODLOČANJE

2.1 NABOR OBVEZNIH VPRAŠANJ IN ALGORITEM ZA SAMOZDRAVLJENJE AKUTNE DRISKE PRI OTROKU

Farmacevt bo staršu (skrbniku) postavil nabor obveznih vprašanj, da bo ugotovil:

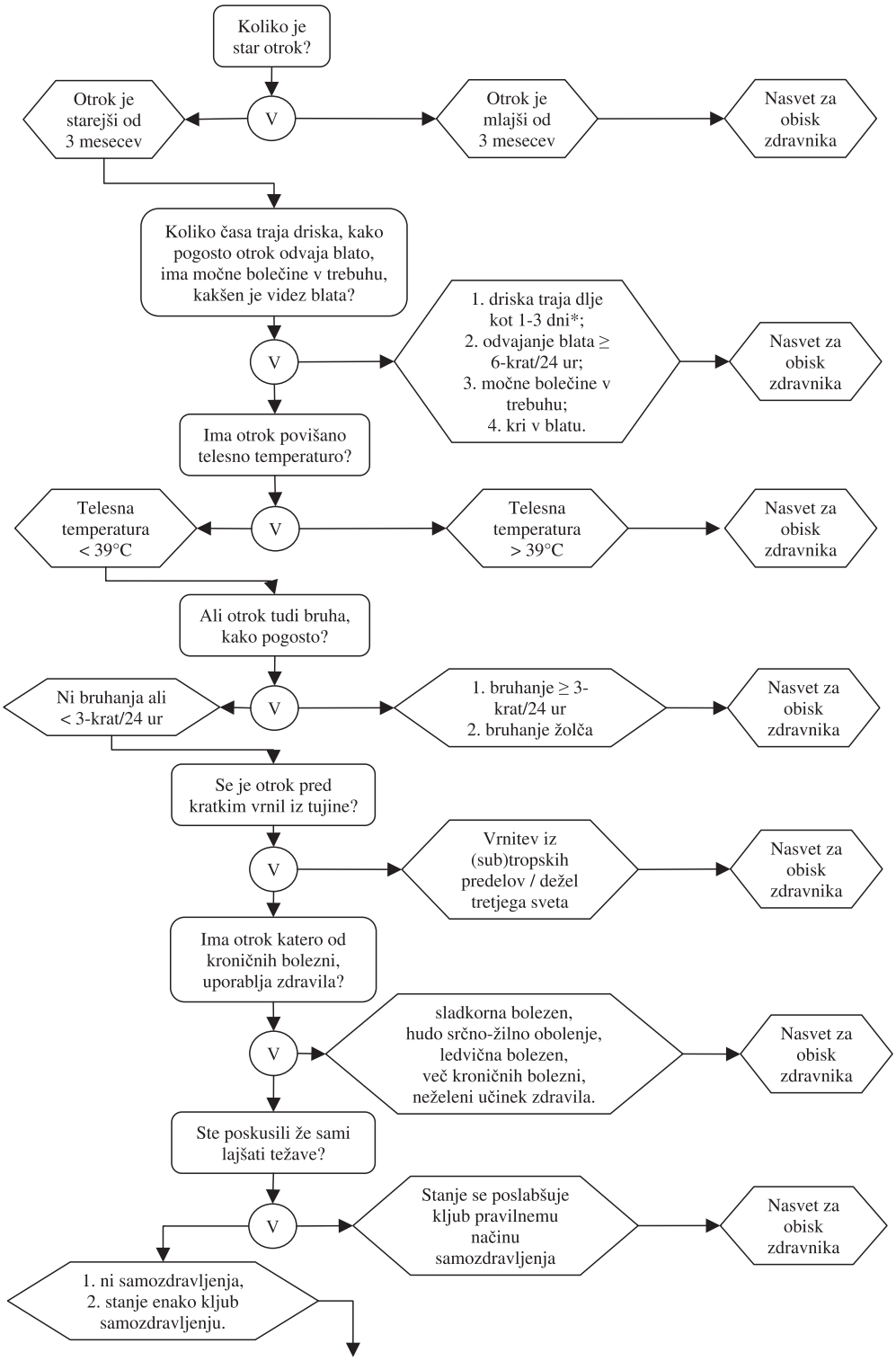
- splošno telesno stanje otroka:
  - starost,
  - patofiziološke posebnosti (kronične bolezni),
  - videz otroka,
- naravo znakov oziroma težav:
  - trajanje driske, pogostost odvajanja blata, videz blata,
  - pridruženi simptomi in znaki,
- dosedanje načine ukrepanja.

Pripravili smo algoritem za samozdravljenje akutne driske pri otroku po priporočilih Lekarniške zbornice Slovenije, upoštevaje procesni model: Oseba želi nasvet za simptom (proces B), ki ga predstavljamo v sliki 1 (7).

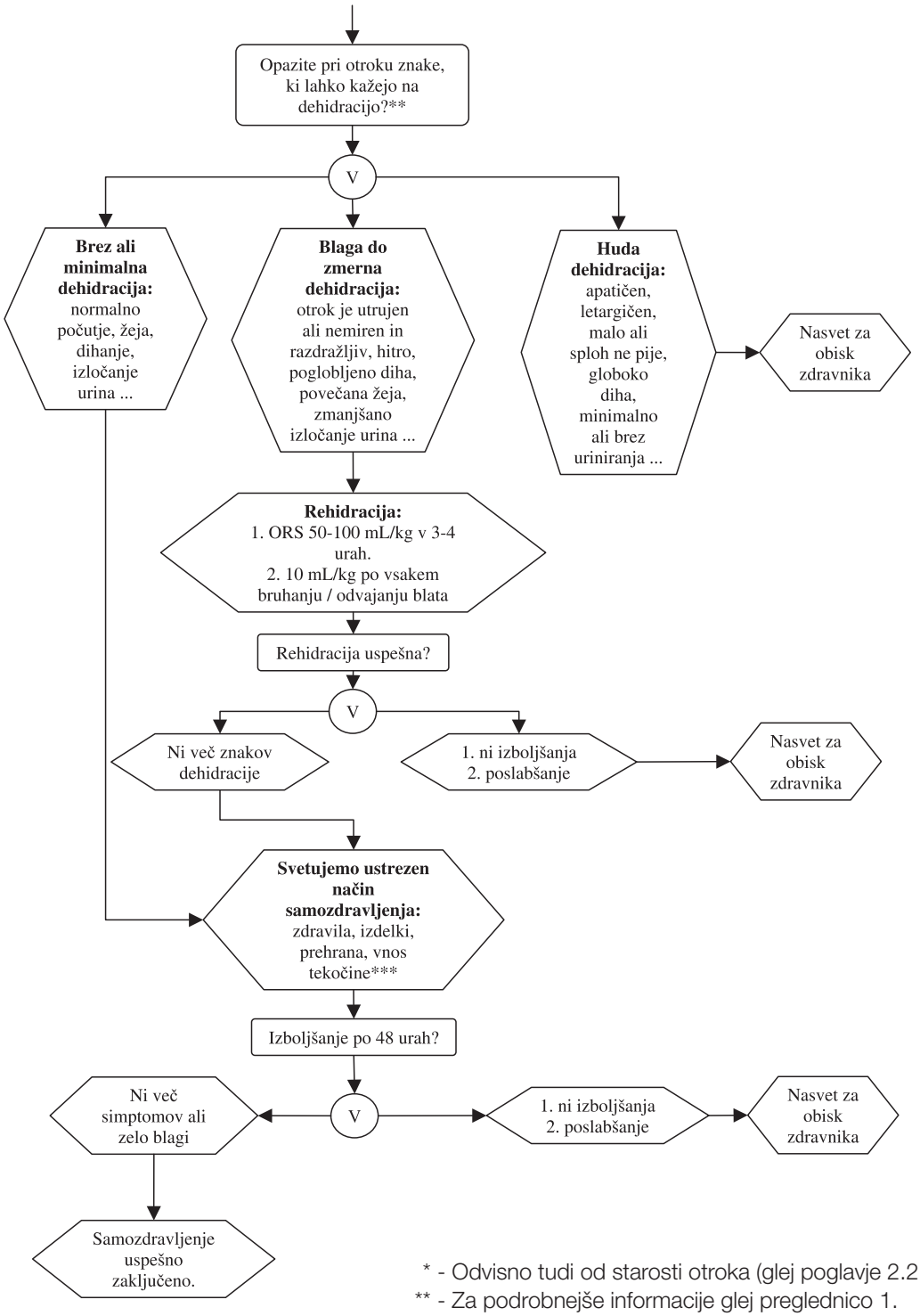
2.2 RAZLAGA OBVEZNIH VPRAŠANJ

2.2.1 Koliko je star otrok?

Čim mlajši je otrok, tem večja nevarnost obstaja, da bo izguba tekočine in elektrolitov pripeljala do dehidracije (3). Starostna meja, pri kateri se odsvetuje samozdravljenje se razlikuje glede na različne vire. Angleška priporočila upoštevajo mejo pri otrocih, mlajših od 6 mesecev, saj gre za dejavnik tveganja za težji in/ali dolgotrajnejši potek okužbe z rotavirusom (1). Ameriška priporočila lekarniškim farmacevtom odsvetujejo samozdravljenje otrok z akutno drisko mlajših od 3 mesecev (5). Podobno mnenje ima Evropsko združenje za pediatrično gastroenterologijo, hepatologijo in prehrano (angl. *European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition* – ESPGHAN), ki priporoča otrokom mlajšim od 3 mesecev z akutno drisko



Slika 1: Algoritem za samozdravljenje akutne driske pri otroku (1, 5, 8).
Figure 1: Algorithm for self-medication of acute diarrhoea in children (1, 5, 8).



* - Odvisno tudi od starosti otroka (glej poglavje 2.2.1.)
** - Za podrobnejše informacije glej preglednico 1.
*** - Za podrobnejše informacije glej poglavje 3.
ORS – (oral rehydration solution = peroralna rehidracijska raztopina).

obisk pri zdravniku. Ob tem velja poudariti, da na težo bolezni bolj kot starost vpliva etiologija (2).

2.2.2 Koliko časa traja driska pri otroku, kako pogosto otrok odvaja blato, ima močne bolečine v trebuhu, kakšen je videz blata?

Samozdravljenje svetujemo le otrokom z akutno drisko. Ob tem je priporočljivo upoštevati tudi otrokovo starost; čim mlajši je otrok, tem prej svetujemo obisk pri zdravniku:

- < 1 leto starosti: ob trajanju > 1 dan,
- < 3 leta starosti: ob trajanju > 2 dni,
- > 3 leta starosti: ob trajanju > 3 dni (1).

Splošno priporočilo je, da otroka z drisko, ki se v 2-3 dneh ne izboljša, pošljemo k zdravniku, saj se pri drugače zdravih posameznikih z akutno drisko brez zapletov stanje običajno popravi v 24 do 48 urah.

Ob odvajanju blata 6-krat ali večkrat v 24 urah je pri otrocih in dojenčkih povečana nevarnost za razvoj dehidracije, zato v takem primeru svetujemo obisk pri zdravniku.

Krči v trebuhu, flatulenca in občutljivost so pogosto prisotni. Prav tako abdominalne bolečine, ki so močnejše pri bakterijskih trebušnih okužbah. Bolečine v trebuhu pri dojenčkih težko prepoznamo. Na njih nakazuje močan, neutolažljiv jok, dojenček postane rdeč v obraz in vleče noge k sebi. Trd trebuh je lahko zaradi mišičnega spazma, ki je lahko znak resnega stanja. Bolečina, ki se premakne s sredine trebuha na desno, lahko nakazuje na vnetje slepiča. Močna abdominalna bolečina lahko nakazuje na ishemično črevesno bolezen.

Pri bolnikih z akutno samoomejujočo drisko je blato običajno tekoče (vodeno). Driska, pri kateri opazimo kri in sluz v blatu (dizenterija), zahteva obisk pri zdravniku, saj lahko nakazuje na invazivno okužbo (*Shigella*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *E. coli* O157). Kri v blatu lahko nakazuje tudi na vnetno črevesno bolezen ali anatomske nepravilnosti (8).

2.2.3 Ima otrok povišano telesno temperaturo?

Ob driski, ki je posledica okužbe z invazivnimi patogeni, se pogosto pojavi tudi povišana telesna temperatura, zaradi česar še ni nujen obisk pri zdravniku. Če je povišana telesna temperatura visoka (>39°C) in vztrajajoča ali je ne uspemo z ustreznim pristopom znižati, pa svetujemo obisk pri zdravniku. Visoka vročina poleg drugih znakov namreč lahko kaže na bakterijsko etiologijo (1).

2.2.4 Ali otrok tudi bruha, kako pogosto?

Ob driski se lahko, predvsem ob virusnem povzročitelju ali zaradi izločanja bakterijskih toksinov (*S. aureus*), pojavi tudi bruhanje, kar poveča možnost pojava dehidracije, posebno če otrok ne more zadržati tekočine. Otrok, ki je poleg pogostega odvajanja tekočega blata v 24 urah še vsaj 3-krat bruhal, je v večji nevarnosti, da bo izguba elektrolitov in vode pripeljala do dehidracije. K zdravniku napotimo tudi otroka, ki bruha žolč (8).

2.2.5 Ste se pred kratkim z otrokom vrnili iz tujine?

Predvsem pri otroku, ki se je pred kratkim vrnil iz tujine; posebno iz tropskih ali subtropskih dežel lahko pričakujemo, da so drisko povzročile bakterije ali paraziti (denimo giardija) in je potrebno zdravljenje pod zdravniškim nadzorom.

2.2.6 Ima otrok katero od kroničnih bolezni, uporablja zdravila?

Ob nekaterih kroničnih boleznih je večja nevarnost zapletov, zato naj zdravljenje spremlja zdravnik. To velja predvsem pri sladkorni bolezni, hudem srčno-žilnem obolenju ter ledvični bolezni. Obisk zdravnika je priporočljiv tudi ob drugih kroničnih obolenjih ter pri imunosuprimiranemu otroku (8).

Driska se lahko pojavi ob uporabi nekaterih zdravil kot posledica neželenega učinka učinkovine (antibiotiki) ali pomožne snovi (sorbitol), česar prav tako ne smemo izključiti.

2.2.7 Ste poskusili že sami lajšati težave?

Preverimo morebitno uporabo zdravil ali prehranskih dopolnil oziroma drugih izdelkov, s katerimi so pri otroku že poskusili lajšati težave. V klinični praksi se je uporaba nekaterih izdelkov (medicinsko oglje) izkazala kot neučinkovita (9).

2.2.8 Opazite pri otroku znake, ki lahko kažejo na dehidracijo (slabo počutje, spremenjena odzivnost, zmanjšano uriniranje, globoko dihanje, bleda in hladna koža ...)?

V večini primerov telesna masa pred boleznijo ni poznana natančno, zato si pri oceni stopnje dehidracije lahko pomagamo s pomočjo drugih meril. Prvi klinični znaki dehidracije se pojavijo med 3 in 9 % izgube telesne mase, kar je razmeroma široko območje. Anamnestični podatek staršev o normalni količini urina pri otroku zmanjša verjetnost, da je otrok dehidriran. Pomembni so podatki o številu porabljenih pleničk (če jih uporablja), izločanju urina, bruhanju (številu in pogostosti), splošnem stanju, aktivnosti otroka,

podatek o vdrtih očeh, spremembah količine zaužite tekočine glede na normalno stanje (manj ali več) in telesni temperaturi. Najboljši trije znaki za oceno več kot 5 % dehidracije so podaljšani čas kapilarne polnitve, slab turgor kože in nenormalen vzorec dihanja. Hladni udi, šibek pulz in odsotnost solz so pri oceni dehidracije lahko pomoč. Vdrte oči in mečava, suhe sluznice, tahikardija in splošna prizadetost pa so pri oceni dehidracije glede na raziskave manj zanesljivi (4).

Znaki dehidracije, ki jih lahko opazimo pri otroku, so predstavljeni v preglednici 1.

Biti letargičen ali zaspan ni enako. Letargičen otrok ni le zaspan: duševno stanje takega otroka je pusto in otroka ne moremo popolnoma prebuditi. Lahko se celo zdi, da pada v nezavest. Pri nekaterih dojenčkih in otrocih se lahko tudi običajno zdijo oči vdrte. Zato je priporočljivo starša vprašati, če so njegove oči drugačne kot običajno (ali so bolj vdrte?). Turgor kože običajno preverimo ob strani trebuha na nivoju popka. Guba, ki jo naredimo s palcem in kazalcem, mora izginiti takoj po sprostitvi. Ta test je predvsem pri dojenčkih, pa tudi nekaterih otrocih (recimo predebelih) manj zanesljiv (6). Napolnjenost kapilar preizkušamo v toplem okolju na prstu roke na nivoju srca. Pritisk postopno povečujemo na palmarni strani distalnega dela prsta dokler ne pobledi. Po sprostitvi pritiska s štoparico merimo čas do normalne obarvanosti.

Raziskave običajno kažejo, da je težko samo na podlagi kliničnih znakov pravilno oceniti stopnjo dehidracije, saj so znaki diskretni in je potrebno precej strokovnega znanja za oceno (2). To je še težje pri pogovoru s staršem ali skrbnikom otroka z drisko, zato se mora farmacevt omejiti na tista vprašanja, na katera starši znajo objektivno odgovoriti (stanje zavesti, uriniranje, bruhanje, število in konsistenca blata).

2.3 ODLOČANJE

Na podlagi pogovora z otrokovim staršem ali skrbnikom farmacevt svetuje brezpogojni obisk zdravnika, izda zdravilo ali drug izdelek z opozorilom o napotitvi zdravniku (pogojni obisk), ali svetuje samozdravljenje.

Preglednica 1: Znaki, ki lahko kažejo na dehidracijo (3, 5).
Table 1: Signs that may indicate dehydration (3, 5).

	Samozdravljenje je primerno		Samozdravljenje ni primerno
Stopnja dehidracije	Minimalna ali brez dehidracije	Blaga do zmerna dehidracija	Huda dehidracija
Izguba telesne mase	< 3 %	3%-8%	≥ 9 %
Znaki dehidracije			
Splošno počutje, stanje zavesti	Dobro počutje, buden	Utrujen ali nemiren, razdražljiv	Apatičen, letargičen, nezavesten
Žeja	Normalna	Žejen, veliko pije	Malo pije ali sploh ne pije
Srčni utrip	Normalen	Normalen ali povečan	Tahikardija; ob nadaljnjem slabšanju bradikardija
Kakovost pulza	Normalen	Normalen do zmanjšan	Težko tipljiv ali neotipljiv
Dihanje	Normalno	Normalno ali hitro, poglobljeno	Globoko, acidozno dihanje
Oči	Normalne	Rahlo vdrte	Globoko vdrte
Solze	Prisotne	Zmanjšana količina	Odsotne
Sluznica	Vlažna	Suha	Izsušena
Turgor kože (kožna guba)	Izgine takoj	Izgine z zamikom < 2 sekund	Ostane več kot 2 sekundi
Napolnjenost kapilar	Normalna (najpozneje v času 1,5-2 sekundi)	Upočasnjena	Občutno upočasnjena
Okončine	Tople	Hladne	Mrzle, lisaste, cianotične
Izločanje urina	Normalno do zmanjšano	Zmanjšano	Minimalno

2.3.1 Brezpogojni obisk zdravnika:

- otrok, mlajši od 3 mesecev,
- dolgotrajna (> 1-3 dni), pogosta (> 6-krat v 24 urah) driska,
- prisotnost krvi ali sluzi v blatu,
- vztrajajoča visoka vročina (> 39°C),
- dolgotrajno (> 2 dni), pogosto (> 3-krat v 24 urah) bruhanje,
- huda dehidracija (spremembe v obnašanju, brez uriniranja v 8 urah, brez solz ob jokanju ...),
- huda abdominalna bolečina,
- nevarnost resnih komplikacij (sladkorna bolezen, hudo srčno-žilno obolenje, ledvična bolezen, več kroničnih obolenj, imunosupresivni bolnik),
- nedavna vrnitev iz tujine (tropski in subtropski kraji, države tretjega sveta),
- neodzivnost na oralno rehidracijsko terapijo (5, 8).

2.3.2 Pogojni obisk zdravnika (izdamo zdravilo ali drug izdelek z opozorilom o napotitvi zdravniku):

- blaga do zmerna dehidracija,
- pri otroku obstaja tveganje za razvoj dehidracije,
- če se pri zdravljenju pojavijo dodatni zapleti,
- če se stanje v 48 urah ne izboljša ali celo poslabša.

2.3.3 Odločimo se za samozdravljenje akutne driske pri otroku (nefarmakološki ukrepi, izbor zdravila/izdelka):

- pri otroku (iz opisa) ne zaznamo alarmantnih znakov/stanj,
- otrok ne kaže znakov dehidracije,
- pri otroku ni povečanega tveganja za razvoj dehidracije.

3 IZBIRA, IZDAJANJE IN SVETOVANJE O ZDRAVILU/IZDELKU

Akutna driska pri otrocih je v evropskih državah v splošnem sorazmerno blaga bolezen, ki mine sama in jo lahko obravnavamo v domačem okolju, čeprav se občasno lahko razvije v resno bolezen. Ko farmacevt potrebe po napotitvi otroka k zdravniku ne zazna, lahko svetuje primeren način samozdravljenja, ki temelji na kliničnih značilnostih in predvsem stremi k preprečevanju dehidracije ali zdravljenju blage do zmerne dehidracije, če je ta prisotna. Tako priporočamo rehidracijo, če je potrebna, hranjenje ter uporabo zdravil ali drugih izdelkov, ki so izkazali stroškovno učinkovitost (9).

Peroralna rehidracijska terapija je nadomeščanje tekočine skozi usta, s čimer preprečimo ali izravnamo dehidracijo, ki je posledica driske. To je standard stroškovno-učinkovitega zdravljenja akutne driske, tudi v razvitih državah, in sestoji iz:

- rehidracije – apliciramo vodo in elektrolite (ORS), da nadomestimo izgube,
- vzdrževanje dovajanja tekočine (tudi s primerno prehrano) (4).

3.1 IZBIRA ZDRAVILA/IZDELKA

Peroralna rehidracijska raztopina (oral rehydration solution - ORS)

ORS vsebuje natrij, kalij in glukozo ali drug ogljikov hidrat, kot je riž v prahu. Poleg tega še citrat ali bikarbonat, da popravi acidozo in je formulirana glede na optimalno osmolarnost. Namen dodatka ogljikovih hidratov je povečanje absorpcije elektrolitov in vode.

Pri priporočilu s strani SZO je zdravilo prve izbire za zdravljenje otrok z akutno drisko ORS z zmanjšano osmolarnostjo (210 – 250 mOsmol/L; 75 mmol/L Na^+), saj se je bolje izkazala (izjema pri koleri) kot klasična ORS z nezmanjšano osmolarnostjo (z 90 mmol/L Na^+), ki jo je prej priporočala SZO. Na to kažejo klinični kazalci, kot so zmanjšan volumen blata, manj bruhanja in manjša potreba po intravenskem nadomeščanju tekočin (4). ESPGHAN predlaga uporabo hipotonične ORS z 60 mmol/L Na^+, ki je učinkovita in varna, obenem pa z zmanjšanjem vsebnosti natrija izboljšamo sprejemljivost s strani otrok, ki ORS z veliko vsebnostjo natrija zavračajo zaradi okusa (2). Najnovejše smernice v ZDA priporočajo hipoosmolarno raztopino z vsebnostjo 45 mmol/L Na^+ (9).

Probiotiki

Dosegljive raziskave pogosto poročajo o dobrobiti uporabe probiotikov, posebno glede ublažitve simptomov, skrajšanja driske in manjšega števila odvajanja tekočega blata. Ima pa veliko raziskav metodološke omejitve, zato je težko podati natančne smernice, navodila oziroma priporočila (10). Skrajšanje driske so zaznali pri uporabi nekaterih živih probiotičnih kultur (*Lactobacillus* GG (LGG), *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bifidus* in *Echerichia Coli Nissle* in nekateri drugi) predvsem pri okužbah z rotavirusi, ne pa pri driski bakterijskega izvora (3). Upoštevaje meta-analize randomiziranih kontroliranih raziskav imata dokazano pozitiven učinek predvsem sev LGG in nekoliko manj *Sacharomyces boulardii*. Učinek bo boljši

ob zgodnejšem začetku uporabe dovolj velikih odmerkov (> 10^{10} – 10^{11} kolonije formirajočih enot) (2).

Cink

Več meta-analiz je dokazalo, da dodajanje cinka pomembno zmanjša resnost in trajanje akutne in obstojne driske pri otrocih, mlajših od 5 let. Dokazov, da bi dodajanje cinka imelo pozitivne učinke pri otrocih, brez pomanjkanja cinka ni (7). UNICEF in SZO pri otrocih z akutno drisko priporočata nadomeščanje cinka v odmerku 10 mg (pri otrocih, mlajših od 6 mesecev) ter 20 mg (pri starejših dojenčkih in otrocih) 10 – 14 dni. Veljajo pa ti podatki za dežele, kjer je pomanjkanje cinka pri otrocih običajno.

Ostali izdelki

O učinkovitosti ostalih izdelkov, razen nekaterih spodaj omenjenih zeliščnih pripravkov, ni objektivnih znanstvenih dokazov. Uporaba nespecifičnih adsorbentov, kot je aktivno oglje, se je v preteklosti pogosto svetovala pri težavah z drisko, predvsem infektivnega vzroka, a jih novejša priporočila več ne vsebujejo. Določene pozitivne učinke so v nekaterih raziskavah uspeli ugotoviti pri uporabi gline diosmektita. Smektit je naraven hidratiziran aluminomagnezijev silikat, ki se veže na prebavno sluz in ima sposobnost vezanja endo- in eksogenih toksinov, bakterij in rotavirusov (4). Smernice prav tako ne vključujejo homeopatskih zdravil ter zeliščnih pripravkov, saj ni dovolj dokazov o učinkovitosti (2, 5).

Ljudska medicina ob driski priporoča uporabo zdravilnih rastlin s čreslovinami, kot je plod borovnice (*Vaccinium myrtillus L.*, *Myrtilli fructus*). Uporabljajo se posušeni plodovi, katerih dnevni odmerek znaša 20-60 g, v obliki dekokta. Za lajšanje krčev pa naslednje zdravilne rastline: cvet prave kamilice (*Matricaria recutita L., Matricarieae flos*), plod navadne kumine (*Carum carvi L., Carvi fructus*), plod sladkega janeža (*Pimpinella anisum L., Anisi fructus*), list poprove mete (*Mentha x piperita L., Menthae piperitae folium*), plod sladkega komarčka (*Foeniculum vulgare var. dulce Mill., Foeniculi fructus*). Navadni slez (*Althea officinalis*) vsebuje sluzi, ki blažijo draženje in pomirjajo vnetje želodčne sluznice (11, 12).

3.2 IZDAJANJE IN SVETOVANJE O ZDRAVILU/IZDELKU

Pri otrocih z izraženimi znaki ali simptomi dehidracije je treba hitro (v roku treh ali štirih ur) nadomestiti izgubljeno vodo in elektrolite. Pri blagi do zmerni dehidraciji odmerimo od 50-100 mL ORS na kg telesne mase v 3-4 urah. Če je na primer 10-kg težak otrok zaradi dehidracije izgubil 5% telesne mase, to pomeni, da je izgubil 500 mL tekočine. Tako priporočamo zaužitje 125 mL ORS vsako uro v štirih urah, ali 170 mL na uro v treh urah. Na tržišču so različni izdelki, ki so namenjeni nadomeščanju izgubljenih elektrolitov. Če gre za prašek ga moramo raztopiti v predpisani količini vode, ne uporabljamo oziroma ne mešamo pa ga z ostalimi napitki (mleko, sadni sokovi). Otroci običajno lažje zaužijejo ORS, če je ohlajena ali pri sobni temperaturi. Dodatek modifikatorjev okusa prav tako poveča sprejemljivost. Da bi zmanjšali možnost bruhanja, priporočamo odmerjanje manjših količin, ali z žličko ali s 5 mL brizgo vsake 1 do 2 minuti. Če otrok take odmerke tolerira brez bruhanja, lahko odmerek povečamo in obdobje odmerjanja podaljšamo (3).

Pri nekaterih otrocih, kamor prištevamo otroke, mlajše od 1 leta, dojenčke z nizko porodno težo, otroke, ki so v preteklih 24 urah odvajali blato vsaj 5-krat ali so v zadnjih 24 urah bruhali vsaj 2-krat, priporočamo ORS tudi po rehidraciji (13). Ti naj po vsakem odvajanju tekočega blata zaužijejo 5-10 mL ORS/kg telesne mase. Okvirna priporočila dodajanja ORS po vsakem bruhanju/odvajanju blata glede na starost ali telesno maso otroka so podani v preglednici 2.

Preglednica 2: *Odmerjanje ORS po vsakem bruhanju/odvajanju blata glede na otrokovo starost ali telesno maso (5, 13).*
Table 2: *Dosage of ORS after each vomit/defecation regarding child's age or weight (5, 13).*

Starost otroka	Količina ORS po vsakem bruhanju/odvajanju blata
< 1 leto	50 mL
1-5 let	100 mL
6-12 let	200 mL
Telesna masa otroka	
< 10 kg	60-120 mL
> 10 kg	120-240 mL

Pri uporabi čajev je priporočljivo opozoriti pred prevelikim vnosom sladkorja, kar lahko drisko še poslabša (13). Ob sočasni uporabi probiotikov in antibiotikov moramo upoštevati vsaj 2-3 urni razmik pri odmerjanju.

3.3 SVETOVANJE GLEDE NEFARMAKOLOŠKIH UKREPOV

V času rehidracije dodajamo kot tekočino le ORS, razen pri dojenem otroku, saj bi prekinitev dojenja lahko tako za

doječo mater kot otroka predstavljala težavo (nelagodje ali mastitis), kar bi lahko privedlo do popolne prekinitve dojenja. Izkušnje prav tako kažejo, da prenehanje dojenja poveča nevarnost dehidracije (8, 13).

Za namen rehidracije ter v času driske ne priporočamo raznih gaziranih pijač (Coca-cola® in druge), saj vsebujejo zelo velike količine sladkorja (≥ 110 g/L), kar poleg velike osmolarnnosti (do 780 mOsm/L) lahko poslabša drisko. Obenem vsebujejo komaj kaj natrija in včasih tudi kalija, zaradi česar lahko nastopi hiponatriemija. Doma pripravljenih mešanic sadnih sokov, sladkorja, soli in vode prav tako niso priporočljive za rehidracijo otrok, posebno mlajših od 5 let. Izkušnje kažejo, da prihaja pogosto do uporabe napačnih količin, razmerje med sestavinami se zelo razlikuje, kar majhne otroke z njihovim labilnim elektrolitskim ravnotežjem po nepotrebnem izpostavlja dodatnim tveganjem (3). Tradicionalen pristop glede prehrane pri driski je vseboval prekinitev hranjenja in pitje čistih tekočin; s počasnim uvajanjem hrane v nekaj dneh, a so raziskave dokazale, da lahko daljša prekinitev hranjenja ali nekajdnevno hranjenje z zmanjšanimi obroki zamakne okrevanje ter poveča možnost razvoja post-enteričnega sindroma z dolgotrajnejšo drisko (3). Novejša priporočila diete več ne vsebujejo, pač pa svetujejo hitro uvedbo hrane (najpozneje 4-6 ur po začetku rehidracije), ki ob vzdrževanju ustrezne hidracije izboljša stanje ob akutni driski pri otrocih, saj skrajša trajanje driske, zmanjša količino izločenega blata in izboljša pridobitev telesne mase. S hranjenjem lahko prekinemo, razen pri dojenem otroku, le za 3-4 ure med postopkom rehidracije, nato pa nadaljujemo s prehrano, ki jo otrok običajno uživa. Izogibamo se le zelo mastni ali sladki hrani ter močno začinjeni hrani, saj lahko poslabša drisko. Ne priporoča se tako imenovana BRAT (bananas or bread, rice, apple(souce) and toast) dieta, saj predvsem ob striktni in dolgotrajni uporabi zagotavlja premajhen vnos kalorij, beljakovin in maščob (4). Na podlagi izsledkov nadzorovanih kliničnih raziskav pri otrocih z blago do zmerno drisko priporočamo, seveda starosti primerno, prehrano s kompleksnimi ogljikovimi hidrati (riž, krompir, kruh in žitarice), pusto meso, jogurt, sadje in zelenjavo. Otroku, hranjenemu z mlečno formulo, te ne redčimo, pač pa jo pripravimo kot običajno, v manjših porcijah, ki mu jih pogosteje ponudimo. Odsvetuje se zamenjava formule, saj lahko večina dojenčkov varno prejema formule, ki vsebujejo laktozo (8).

Otroka spodbujamo k zadostnemu uživanju tekočin, da preprečimo morebitno dehidracijo. A vsi napitki, kot so recimo sadni sokovi in gazirane pijače niso primerni in se jim morajo izogibati, saj vsebujejo veliko sladkorja, kar lahko drisko poslabša.

4 PREVENTIVA

Za preprečevanje z virusi (rotavirusi) povzročene akutne driske je priporočljiva imunizacija ter uporaba specifičnih probiotikov, ki dokazano zmanjšujejo število črevesnih in respiratornih okužb (LGG, *L. reuteri*). Obstajajo dokazi, da dojenje znižuje pogostost okužb prebavil pri otrocih, zato ga spodbujamo. Manjša verjetnost infektivne akutne driske je pri otrocih, ki niso v skupinskem varstvu. Z upoštevanjem načel higiene se zmanjša širjenje okužbe v gospodinjstvih in institucijah (3). Roke po menjavi plenic, uporabi stranišča ali pred pripravo hrane oziroma pred jedjo, umijemo s toplo vodo in milom. Stranišča očistimo in dezinficiramo. Okužene površine, kot so ročke za splakovanje straniščne školjke, umivalnike, pipe in kljuke prav tako očistimo. Brisač, ki so jih uporabljali okuženi otroci, ne smejo uporabljati druge osebe. Otroci morajo ostati doma in se smejo vrniti v šolo oziroma vrtec šele 48 ur po bruhanju ali driski. Ti otroci ne smejo uporabljati bazenov 14 dni po zadnji epizodi driske (8, 10, 13).

5 ZAKLJUČEK

Akutna driska je v otroštvu pogosta, predvsem v prvih letih življenja. Starši so nemalokrat v dilemi ali je potreben obisk pri zdravniku. Lekarniški farmacevt jim pri odločitvi glede samozdravljenja lahko ustrezno svetuje, pri čemer mu je lahko opisan algoritem v precejšnjo pomoč. Pri svetovanju mora biti posebno pozoren na izražene znake, ki kažejo na hudo dehidracijo. Pri svetovanju o samozdravljenju upošteva najnovejše ugotovitve glede učinkovitosti določenih zdravil ali drugih izdelkov, kakor tudi glede ustrezne prehrane.

6 LITERATURA:

1. *Rutter P. Community Pharmacy – Symptoms, Diagnosis and Treatment. 2nd edition. Churchill Livingstone Elsevier. Edinburgh. 2009: 142-148.*
2. *Guarino A, Albano F, Ashkenazi S, Gendrel DJ, Hoekstra H, Shamir R, Szajewska H. European Society for Paediatric*

Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases Evidence-based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe. J Pediatr Gastroenterol Nutr, Vol. 46, Suppl. 2, May 2008.

3. *Koletzko S. Osterrieder S. Acute Infectious Diarrhea in Children. Dtsch Arztebl Int 2009; 106 (33): 539-48.*
4. *Vintar Spreitzer M. Čižman M. Orel R. Akutna driska pri otroku. Slov Pediatr 2009; 16: 58-71.*
5. *Walker P C. Diarrhea. In: Handbook of Non-prescription Drugs. An Interactive Approach to Self-Care. 16th edition. APhA. Washington, DC: 2009: 289-308.*
6. *Farthing M et al. World Gastroenterology Organisation practice guideline: Acute diarrhea. March 2008.*
7. *Čufer A, RSK za lekarniško farmacijo. Procesni model za svetovanje pri samozdravljenju v lekarni. Lekarništvo 2004; 3-4:34-39.*
8. *Marshall S. Diarrhoea and vomiting in a child. PJ Online. March 2010: 1-5.*
9. *Guarino A, Dupont C, Gorelov A G et al. The management of acute diarrhea in children in developed and developing areas: from evidence base to clinical practise. Expert Opin. Pharmacother. (2012). 13(1): 17-26.*
10. *Diarrhoea and vomiting in children – Diarrhoea and vomiting caused by gastroenteritis: diagnosis, assessment and management in children younger than 5 years. NICE clinical guideline 84, April 2009.*
11. *Schulz et al. Rational Phytotherapy. A Reference Guide for Physicians and Pharmacists. 5th edition. Spinger, 2004.*
12. *Barnes J, Anderson L A, Philipson J D. Herbal Medicines. 3rd edition. Pharmaceutical Press. 2007: 79-83.*
13. *Van der Westhuizen A. Gastroenteritis in children. Prof Nurs Today. 2011; 15(5): 34-46.*

PREBRALI SMO ZA VAS

SHORT PHARMA NEWS

UREDILA:
prof. dr. Borut Štrukelj; Lidija Gerzej, mag. farm.
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo

NIZEK KRVNI TLAK ZMANJŠUJE MOŽGANSKO AKTIVNOST PRI SRČNIH BOLNIKIH

Bolniki, ki imajo srčnožilne bolezni, za katere je značilen nižji krvni tlak od fiziološkega, oziroma je nižji krvni tlak lahko tudi posledica neoptimalnega antihipertenzivnega zdravljenja, so bolj dovzetni za možgansko atrofijo, ki se lahko kaže kot odmrtje možganskih celic ali medceličnih povezav. Take možganske poškodbe pa lahko vodijo do Alzheimerjeve bolezni oziroma ostalih dementnih stanj. Res pa je, da tudi znižanje previsokega krvnega tlaka izboljša patološko stanje, ki vodi do odmrtja možganskih celic, kar kaže na velik pomen optimalnega krvnega tlaka. Še posebej nevaren je nizek diastolični tlak pod 70 mmHg. Dr. Majon Muller iz Univerzitetnega medicinskega centra Amsterdam, ki je vodila to raziskavo, je izsledke objavila skupaj s soavtorji v junijski številki ugledne raziskovalne medicinske revije JAMA Neurology.

Vir: Muller JM in sod., JAMA Neurology, online Junij 10, 2013

ACETILSALICILNA KISLINA LAHKO VPLIVA NA POSLABŠANJE STAROSTNO POGOJENE DEGENERACIJE RUMENE PEGE

V petnajst let trajajoči klinični študiji, ki je bila objavljena v znanstveni publikaciji JAMA Internal Medicine, so preučevali vpliv acetilsalicilne kisline (ACA) na stanje starostno pogojene degeneracije rumene pege. Starostno pogojena makularna degeneracija oziroma degeneracija rumene pege je bolezen očesa, katera vodi k izgubi vida v območju ostrosti vida. Pri tej degenerativni bolezni zaradi starostnih sprememb propada mrežnica in žilnica v rumeni pegi na očesni mrežnici. Rumena pega nam omogoča gledanje najmanjših podrobnosti. Postopoma izginja središčni vid, medtem ko obrobje ostaja neprizadeto. V primerjani analizi so ugotovili vsaj dvakrat višjo verjetnost poslabšanja vida zaradi razvoja starostne pogoje degeneracije rumene pege pri tistih udeležencih študije, ki so jemali acetilsalicilno kislino vsaj enkrat tedensko. Kljub temu pa velja preventivno jemati acetilsalicilno kislino pri bolnikih s povečanim tveganjem za razvoj krvnih strdkov, saj gre v slednjem primeru lahko za življenjsko nevaren zaplet.

Vir: Medscape Medical news , Junij 2013

ŠE ENA POTRDITEV, DA CEPLJENJE NE POVZROČA GUILLAIN-BARREJEVEGA SINDROMA (GBS)

Pred obširnejšimi akcijami cepljenja se v nestrokovnih medijih pogosto pojavljajo nepreverjene teorije o škodljivosti cepljenj. Kljub dejstvu, da je cepljenje proti različnim patogenom doslej v svetovnem merilu rešilo bistveno več življenj kot uporaba protimikrobnih zdravil, še vedno delujejo skupine, ki svarijo pred neželenimi učinki cepljenja. Guillain-Barrejev sindrom (GBS) je akutno vnetje perifernega živčnega sistema, ki se začne s šibkostjo stopal in dlani ter širi proti trupu. Če GBS napreduje do živčevja dihalnih mišic, lahko nastopi življenjsko nevarno patološko stanje. GBS je sicer redek zaplet, zbolita 2 bolnika na 100.000 ljudi, običajno ga sproži infekcija.

V obširni retrospektivni študiji, ki je v trinajstih letih zajela več kot 30 milijonov uporabnikov cepljenja na leto, je Roger Baxter s sodelavci ugotovil 415 potrjenih primerov GBS, pri čemer je le 25 uporabnikov dobilo kakršnokoli cepivo v obdobju 6 tednov od nastopa bolezni. Tako je dokazano, da se je GBS razvil v manj kot 1 primeru na milijon odmerkov cepiva, kar je manj od povprečja pri nastanku vseh GBS, ne glede na cepljenje. Raziskovalci so dodatno ugotovili, da statistično ni odstopanj tudi v primeru cepljenj otrok, kljub obširnemu parenteralnemu cepljenju (proti

oslovskemu kašlju, mumpsu in rdečkam v 1,6 milijona odmerkov)in peroralnemu cepljenju (proti otroški paralizi v 1,2 milijona odmerkov) , v konjugiranem pnevmokoknem cepivu (1,3 milijona odmerkov), DI-TE-PER cepivu (1,9 milijona odmerkov), in cepivu proti bakteriji Haemophilus, davici, tetanusu in oslovskemu kašlju (1,2 milijona odmerkov).

Vir: Baxter R in sod. Clin Infect Dis 2013, 57; 197-204

STATINI POVEČUJEJO TVEGANJE ZA MIŠIČNE POŠKODBE

Statini so eni od najpogosteje predpisanih zdravil v sodobni materiji mediki. So relativno varna zdravila in izkazujejo številne pozitivne farmakološke učinke. Že dolgo pa je znano, da z zmanjšanjem sinteze endogenega holesterola negativno vplivajo na prožnost celičnih membran, predvsem membran miocitov. V obširni študiji, objavljeni v junijski številki revije JAMA Internal Medicine, so potrdili neželeni učinek statinov na razvoj mišičnih poškodb.

V študijo so vključili 6967 uporabnikov statinov in enako število tistih, ki statinov ne uživajo. 73,5% je bilo takih, ki so jemali simvastatin (80 mg), ostali pa so jemali atorvastatin (80 mg) ali rosuvastatin (40 mg), ki predstavljajo najvišje uporabljene odmerke. Kar pri 19% tistih, ki so uživali statine, so se razvile mišičnoskeletne poškodbe, pri 9% pa bolečine v mišicah, v primerjavi s placebo skupino. Zanimivo pa niso dokazali povezave med dolgotrajnim jemanjem statinov in pojavnostjo neželenih učinkov. Iz tega sklepajo, da je za pojav resnih neželenih učinkov z delovanjem na mišice verjetno v prvi vrsti odgovorno genetsko ozadje posameznikov. V dveh predhodnih študijah so opisovali povečano verjetnost razvoja osteoartritisa pri bolnikih, ki jemljejo statine, a v omenjeni študiji tega statistično niso dokazali. Študija še prav posebej opozarja na nevarnost pojava mišičnih težav pri telesno aktivnih posameznikih in nakazuje na povečano previdnost pri vključevanju mlajših bolnikov, ki bi želeli regulirati vsebnost LDL holesterola.

Vir:
Mansi I in sod. JAMA Intern Med 2013;
DOI:10.1001/jamainternmed.2013.6184.

VELIKA ŽLICA OLJNEGA SOLATNEGA PRELIVA PROTI RAKU PROSTATE?

Moški z rakom prostate si lahko podaljšajo preživetje, če živalske maščobe v prehrani nadomestijo z rastlinskimi. Dovolj je lahko že ena velika žlica oljnega preliva za solato na dan. Tako nakazujejo novi izsledki, objavljeni v elektronski izdaji revije JAMA.

Gre za raziskavo, v kateri so povprečno 8 let spremljali skoraj 4600 moških z lokaliziranim rakom prostate. V omenjeni raziskavi se je moškim, ki so 10% dnevnega energijskega vnosa iz živalskim maščob in ogljikovih hidratov nadomestili z rastlinskimi maščobami, kot so olivno olje, olje oljne repice, oreški ter avokado, tveganje za smrt zaradi napredovanja raka prostate znižalo za 29 %. Obenem pa se je za 26 % znižalo tudi tveganje za smrt zaradi drugih bolezni v primerjavi z moškimi, ki te spremembe v prehrani niso izvedli. V raziskavi so ugotovili, da je v osemletnem obdobju spremljanja bolnikov umrlo 1064 moških, vzrok smrti je bil v 31% srčno obolenje, v 21% rak prostate in malo manjši delež zaradi drugih rakov. V okviru te raziskave niso mogli potrditi, da so samo rastlinske maščobe odgovorne za preživetje moških v raziskavi. Rezultati pa nakazujejo, da ima uživanje rastlinskih maščob, ki so se že uveljavile kot zdrave maščobe, zaščitne učinke za to vrsto raka. Prav tako kaže, da bi zmanjšanje vnosa nasičenih maščob in ogljikovih hidratov na račun povečanja vnosa nenasičenih maščob lahko bil tretji ukrep za zmanjševanje tveganja za smrt zaradi raka prostate poleg že znanih dveh, opustitve kajenja in vzdrževanja normalne telesne mase. Rezultati raziskave so vznemirljivi in bodo spodbudili še dodatne randomizirane in dobro nadzorovane raziskave, ki so potrebne, da bomo lahko naredili zaključke o učinkih rastlinskih maščob ali drugih dejavnikov v prehrani na napredovanje raka prostate.

Vir:
Richman EL in sod. JAMA Intern Med. 2013;():1-8.
doi:10.1001/jamainternmed.2013.6536

KALCIJ ZMANJŠUJE SMRTNOST PRI ŽENSKAH

V reviji Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism pred kratkim objavljeni rezultati iz 10-letne opazovalne štu-

dije so pokazali, da dnevni vnos kalcija do 1000 mg na dan bodisi s prehrano bodisi s prehranskimi dopolnili ni škodljiv, kvečjemu koristi. Rezultati so pomirjujoči, saj so nekatere prejšnje raziskave nakazovale, da naj bi dodatki kalcija povečali tveganje za srčno in možgansko kap.

Kanadski raziskovalci so v okviru raziskave CaMos (the Canadial Osteoporosis Study) 10 let spremljali 9033 moških in žensk, da bi ugotovili povezavo med celokupnim vnosom kalcija in vitamina D ter smrtnostjo zaradi vseh vzrokov. Podatke o vnosu kalcija in vitamina D so pridobili preko skrajšanih semikvantitativnih vprašalnkov o prehrani, ki so bili del glavnega vprašalnika. Kot hrano bogato s kalcijem so upoštevali mleko, mlečne izdelka, dimljen losos, brokoli,temno zeleno listnato zelenjavo, posušeni grah ali fižol, polnozrnat in beli kruh ter sojin sir (tofu). Kot vir vitamina D so šteli mleko in jogurt obogatena z vitaminom D. Prav tako so upoštevali vnos kalcija in vitamina D s prehranskimi dopolnili in zdravili.

Ugotovili so, da je na 500-mg povečanje vnosa kalcija dnevno razmerje tveganja pri ženskah za smrt 0,95, ob uživanju kalcija 1000 mg dnevno v obliki prehranskih dopolnil pa je bilo razmerje tveganja 0,78 v primerjavi s skupino žensk, ki prehranski dopolnil ni jemala, kar kaže na možno korist večjega vnosa kalcija. Omenjeni rezultati veljajo le za ženske, pri moških pa stastično pomembnih razlik niso ugotovili. Razlog so kanadski raziskovalci pripisali manjšem številu vključenih preskušancev, morda premalem za detekcijo razlik, niso pa mogli izključiti tudi bioloških razlik med spoloma. Zaščitnega učinka vitamina D ravno tako niso potrdili, vendar ima vitamin D druge koristne učinke, sodeluje pri prevzemu kalcija in ostaja pomemben dejavnik za zdravje kosti.

Vir:
Langsetmo L. J Clin Endocrinol Metab. Objavljeno: online Maj 23, 2013

NOVO ZDRAVILO ZA ZDRAVLJENJE DEBELOSTI: V AMERIKI NA TRG, V EVROPI ZADRŽANI

V teh dneh na ameriško tržišče prihaja novo zdravilo za zdravljenje debelosti lorkaserin (Belviq). Zdravilo je FDA po predhodni zavrnitvi odobrila lansko leto. Zdravilo prihaja na ameriški trg z zamudo, saj so preverjali tveganje za zlorabe. Bolniki bodo lahko zdravilo dobili na recept in sicer za dolgoročno uravnavanje telesne mase skupaj z nadzorovanim vnosom kalorij ter povečano telesno dejavnostjo. Zdravilo je namenjeno bolnikom z indeksom telesne mase (ITM) 30kg/m2 ali večjim oziroma bolnikom z ITM vsaj 27kg/m2 in sočasno prisotno boleznijo povezano z debelostjo, kot na primer sladkorna bolezen tipa II ali zvišan krvni tlak. Učinkovina lorkaserin je agonist receptorjev 5HT2c. Lorkaserin na receptorjih posnema delovanje seretonina, kar poveča občutek sitosti po obroku, zmanjšuje občutek lakote pred obrokom ter tako vodi v zmanjšan vnos hrane. Tako v ZDA, kako pa doma v EU? EMA je o zdravilu imela drugačno mnenje. Zaradi potencialnega tveganja za tumorje po dolgotrajni uporabi in drugih nejasnosti na področju varnosti zdravila, kot so tveganje za depresijo in valvulopatija, ki jih je izpostavila EMA, je podjetje Arena Pharmaceuticals svojo vlogo za pridobitev dovoljenja za promet v EU v mesecu maju umaknilo.

Vir:
Nainggolan L. New Obesity Drug, Belviq, in US Pharmacies Next Week. Medscape. Jun 07, 2013.

PROBIOTIKI IMAJO VPLIV NA MOŽGANSKO AKTIVNOST

Vedno več predkliničnih podatkov nakazuje, da črevesna flora vpliva na aktivnosti v delu v možganih, ki je odgovoren za čustveno vedenje. Raziskave na miših so pokazale, da imajo mikroorganizmi v črevesju pomembno vlogo v razvoju možganov. Spremembe v njeni sestavi pri odraslih miših zaradi probiotikov, antibiotikov ali presaditve črevesa so pokazali vpliv na dojemanje bolečine, čustev in biokemijske procese v možganih. Ti izsledki so vodili do provokativnega vprašanja, ali ima črevesna flora tudi pri ljudeh soroden učinek, njene spremembe pa morebiti vlogo pri razvoju psihiatričnih obolenj ali kroničnih trebušnih bolečinskih sindromov, kot npr. sindrom razdražljivega črevesja. Veliko dokazov že obstaja, da probiotiki pri ljudeh vplivajo na delovanje črevesja oziroma prebavo, da bi pa probiotiki ali antibiotiki vplivali na možgane kot pri miših pa prvotni izsledki niso kazali, vendar raziskave tečejo dalje. Skupina francoskih in ameriških raziskovalcev je, kot poročajo v znanstveni reviji Gastroenterology, na skupini zdravih žensk brez težav s prebavili in psihiatričnih bolezni preučevala ali fermentirano mleko s probiotiki vpliva na intrinzično aktivnost možgan in čustveno odzivnost. Fermentirano mleko je vsebovalo *Bifi-*

dobacterium animalis subsp Lactis, Streptococcus thermophiles, Lactobacillus bulgaricus in Lactococcus lactis subs *Lactis.* Preskušanke so mleko s probiotiki uživale dvakrat dnevno 4 tedne. Preskušankam so s pomočjo MRI merili možgansko odzivnost na standardiziran test čustvene pozornosti pred in po zaužitju mleka ter aktivnost možganov v mirovanju. Pri skupini, ki je uživala fermentirano mleko s probiotičnimi sevi, se je pokazal jasen učinek na aktivnost področij možgan, ki nadzorujejo čustva in občutke, v primerjavi s kontrolnima skupinama, ki sta uživali nefermentirano mleko oziroma nista uživali nobenega mleka. Omenjena randomizirana z dvema skupinama nadzorovana raziskava, ni bilo zasnovana, da bi raziskovala mehanizem omenjenega učinka, vendar gre za prvo raziskavo, ki je nakazala vpliv probiotikov na signalne poti med prebavili in možgani pri ljudeh. Ko in če bodo signalne poti identificirane in potrjene z bodočimi raziskavami, bo uravnavanje črevesne flore lahko nova tarča za zdravljenje bolnikov z motenim odzivom na bolečino in stres povezanim z neustrezno sestavo črevesne flore.

Vir: Tillisch K s sod. Gastroenetrology 2013; 144: 1394-1401.

Zinforo™
fosamilceftarolin

Nov cefalosporin, drugačen od drugih.

Skrajšani povzetek temeljnih značilnosti zdravila

Zinforo 600 mg prašek za koncentrat za raztopino za infundiranje

Sestava: Ena viala vsebuje 600 mg fosamilceftarolina v obliki fosamilceftarolinijevega monoacetata monohidrata.
Indikacije: Zdravilo Zinforo je indicirano pri odraslih za zdravljenje zapletenih okužb kože in mehkih tkiv ter zunajbolnišnične pljučnice.
Odmerjanje in način uporabe: Priporočeni odmerek za bolnike, stare 18 let ali več, je 600 mg na 12 ur v 60-minutni intravenski infuziji. Priporočeno trajanje zdravljenja zapletenih okužb kože in mehkih tkiv je od 5 do 14 dni, priporočeno trajanje zdravljenja zunajbolnišnične pljučnice pa 5 do 7 dni. Odmerek je treba prilagoditi, če je očistek kreatinina > 30 in ≤ 50 ml/min, in sicer na 400 mg na 12 ur v 60-minutni intravenski infuziji. Za specifična priporočila o prilagoditvi odmerjanja pri bolnikih s hudo okvaro ledvic (očistek kreatinina ≤ 30 ml/min) in končno odpovedjo ledvic, vključno z bolniki na hemodializi, ni dovolj podatkov.
Kontraindikacije: preobčutljivost za zdravilno učinkovino ali katerokoli pomožno snov, preobčutljivost za cefalosporinska zdravila za zdravljenje bakterijskih okužb,takojšnja in huda preobčutljivost (npr. anafilaktična reakcija) na katerokoli drugo vrsto betalaktamskih zdravil za zdravljenje bakterijskih okužb (npr. na peniciline ali karbapeneme)
Opozorila in previdnostni ukrepi: Možne so resne preobčutljivostne reakcije, občasno s smrtnim izidom. Če se med zdravljenjem z zdravilom Zinforo pojavi huda alergijska reakcija, je treba uporabo zdravila prekiniti in ustrezno ukrepati. Med uporabo fosamilceftarolina sta bila opisana z zdravili za zdravljenje bakterijskih okužb povezani kolitis in psevdomembranski kolitis; segata lahko od blagega do smrtno nevarnega. Zato je na to diagnozo treba pomisliti pri vseh bolnikih, ki se jim med uporabo fosamilceftarolina ali po njej pojavi driska. V takšnih okoliščinah pride v poštev prenehanje zdravljenja s fosamilceftarolinom in uporaba podpornih ukrepov, obenem z uporabo specifičnega zdravljenja proti Clostridium difficile. Med zdravljenjem z zdravilom Zinforo ali po njem se lahko pojavi superinfekcija. Zdravilo Zinforo je treba uporabljati previdno pri bolnikih s konvulzivno motnjo. Na voljo ni dovolj podatkov, da bi bilo mogoče dati specifična priporočila za prilagajanje odmerka pri bolnikih s hudo okvaro ledvic (očistek kreatinina ≤ 30 ml/min) in končno odpovedjo ledvic, vključno z bolniki na hemodializi. Zato zdravila Zinforo v tej populaciji bolnikov ni priporočljivo uporabljati. Med zdravljenje s cefalosporini se lahko pojavi pozitiven izvid direktnega antiglobulinskega testa (DAGT - direct antiglobulin test). Bolnike, pri katerih se med zdravljenjem z zdravilom Zinforo ali po njem pojavi anemija, je treba pregledati glede možnosti pojava hemolitične anemije.
Nosečnost in dojenje: Zaradi previdnosti se je zdravilu Zinforo med nosečnostjo bolje izogniti, razen če klinično stanje ženske zahteva zdravljenje z antibiotikom, ki ima takšen protibakterijski profil kot zdravilo Zinforo. Ni znano, ali se fosamilceftarolin ali ceftarolin pri človeku izloča v materino mleko. Odločiti se je treba bodisi za prenehanje dojenja bodisi za prekinitev/prenehanje zdravljenja z zdravilom Zinforo, upoštevaje koristi zdravljenja za žensko.
Medsebojno delovanje zdravil: Študije medsebojnega delovanja zdravil s fosamilceftarolinom niso bile izvedene. Možnost za medsebojno delovanje ceftarolina ali fosamilceftarolina z zdravili, ki se presnavljajo z encimi P450, je predvidoma majhna, ker in vitro niti ne zavirata niti ne inducirata encimov P450. Ceftarolin ali fosamilceftarolin se in vitro ne presnavljata z encimi P450, zato ni verjetno, da bi njuna sočasna uporaba z induktorji ali zaviralci P450 vplivala na farmakokinetiko ceftarolina. Ceftarolin in vitro ni ne substrat ne zaviralec ledvičnih privzemnih prenašalcev (OCT2, OAT1 in OAT3). Zato ni pričakovati medsebojnih delovanj ceftarolina z zdravili, ki so substrati ali zaviralci (npr. probenecid) teh prenašalcev.
Neželeni učinki: Najpogostejši neželeni učinki, ki so se pojavili pri ≥ 3 % bolnikov, zdravljenih z zdravilom Zinforo, so bili driska, glavobol, navzea in srbenje. Na splošno so bili blagi ali zmerni.
Vrsta in vsebina ovojnine: 20-ml steklena viala (iz stekla tipa 1), zaprta z gumijastim (halobutilnim) zamaškom, aluminijsko zaporo in odstranljivim pokrovčkom; zdravilo je pakirano v pakiranje z 10 vialami.
Datum priprave besedila: avgust 2012
Imetnik dovoljenja za promet: AstraZeneca AB, S-151 85, Södertälje, Švedska.
Dodatne informacije so na voljo pri: AstraZeneca UK Limited, Podružnica v Sloveniji, Verovškova 55, 1000 Ljubljana, telefon: 01/51 35 600.
Pred predpisovanjem, prosimo, preberite celoten povzetek glavnih značilnosti zdravila.

Informacija pripravljena: maj 2013. Samo za strokovno javnost.

AstraZeneca

ZIN 13/13 P

NOVI DOKTORJI ZNANOSTI

NEW DOCTORS OF SCIENCE

UREDILA:
asis. dr. Janja Zupan, mag. farm.
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo

dr. VERONIKA ŠKEDELJ, mag. farm.

NAČRTOVANJE, SINTEZA IN VREDNOTENJE INHIBITORJEV D-ASPARTAT LIGAZE IN D-ALANIL-D-ALANIN LIGAZE

MENTORICA:
doc. dr. Anamarija Zega, mag. farm.

Iskanje in preučevanje novih tarč in načrtovanje protibakterijskih učinkovin z novimi mehanizmi delovanja je pomemben pristop v boju z bakterijsko rezistenco, ki predstavlja vedno večji problem v sodobnem zdravstvu. Bakterijski peptidoglikan je eno pomembnejših tarčnih mest za razvoj novih protibakterijskih učinkovin saj zaviranje njegove biosinteze vodi do lize celice in do bakterijske smrti. Dr. Veronika Škedelj je v okviru svojega doktorskega dela načrtovala, sintetizirala in biološko ovrednotila ATP-kompetitivne inhibitorje dveh bakterijskih encimov, ki sodelujeta v procesu biosinteze peptidoglikana, in sicer D-aspartat ligaze ter D-alanil-D-alanin ligaze.

Doktorandka se je v začetni fazi doktorskega dela posvetila še malo poznani D-aspartat ligazi (Asl_{fm}), encimu, ki sodeluje v procesu prečnega premreženja peptidoglikanskih vlaken. Razvila je postopek izolacije rekombinantnega encima in postavila encimski test s katerim je preučila kinetiko izoliranega encima in nato z uporabo spletnega strežnika ENZO ter dobljenih ekperimentalnih krivulj poiskala model katalitičnega mehanizma Asl_{fm}. Dobljen model potrjuje predhodno znana dejstva o mehanizmu reakcije ter se sklada z mehanizmi ostalih encimov, ki spadajo v isto družino ATP-grasp encimov. Po podrobnejši karakterizaciji Asl_{fm} je sledilo načrtovanje spojin, ki bi zavrle delovanje tega bakterijskega encima. Pri rešetanju manjše banke že znanih ATP-kompetitivnih inhibitorjev bakterijskih encimov, ki spadajo v ATP-grasp družino je uspela odkriti sploh prvi inhibitor tega encima in z optimizacijo dobljenega zadetka tako s sinteznim pristopom kot tudi s pomočjo postavitve farmakofornega modela in virtualnim rešetanjem kar za 15-krat izboljšala inhibitorno aktivnost. Vezavo inhibitorjev v aktivno mesto tarčnega encima je potrdila in termodinamsko karakterizirala s pomočjo izotermne titracijske kalorimetrije. V nadaljevanju doktorskega dela je načrtovala piridopirimidinske inhibitorje bakterijskega encima D-alanil-D-alanin ligaze. S klasičnim rešetanjem spojin iz interne knjižnice znanih ATP-kompetitivnih inhibitorjev je odkrila nov inhibitor tarčnega encima, ki ga je uporabila kot izhodišče za optimizacijo s sintezo analogov osnovnega skeleta treh različnih tipov. Vezavo inhibitorjev na tarčni encim je potrdila še s pomočjo površinske plazmonske resonance, s kinetičnimi študijami je potrdila vezavo inhibitorjev v ATP-vezavno mesto in s pomočjo izotermne titracijske kalorimetrije določila termodinamske parametre vezave.

Rezultati raziskovalnega dela dr. Veronike Škedelj so bili objavljeni v dveh izvirnih znanstvenih člankih v mednarodnih revijah s faktorjem vpliva, del njenih rezultatov pa je zbran v še dveh rokopisih člankov, poslanih v objavo.

dr. ANDREJA ZELENIK PEVEC, univ.dipl.inž.kem.teh.

BIOTRANSFORMACIJA ARZENOVEGA TRIOKSIDA IN URAVNAVANJE IZRAŽANJA METALOTIONEINOV V HUMANI GLIOBLASTOMSKI CELIČNI LINIJI U87 MG

MENTORICA:
prof. dr. Janja Marc, mag. farm., spec. med. biokem.
SOMENTORICA:
doc. dr. Ingrid Falnoga, mag. farm.

Glioblastomi so najbolj pogosta vrsta primarnih možganskih tumorjev, preživetje pa je zaradi visoke rezistence na zdravljenje zelo nizko. V Sloveniji zboli približno 40 do 50 oseb letno. V zadnjem desetletju se poleg kirurške odstranitve in radioterapije standardno izvaja tudi hkratna kemoterapija, ki je potrojila povprečni delež bolnikov z dvoletnim preživetjem, iz 8% na 25%. Kot kemoterapevtik se uporablja temozolamid, v zadnjem času pa se klinično preizkušajo tudi novi načini kot na primer uporaba arzenovega trioksida z ali brez askorbinske kisline.

Doktorandka je v nalogi spremljala biotransformacijo arzenovega trioksida in interakcije arzena z metalotioneini v človeški glioblastomski celični liniji U87 MG, ki je bila modelni sistem za tumor. Oba procesa lahko bistveno vplivata na terapevtsko učinkovitost arzenovega trioksida. Ugotovila je, da tako nutritivna sestava medijev kot farmakološki odmerki askorbinske kisline vplivajo na oksidacijo arzenovega trioksida v biološko manj aktiven arzenat. Iz vidika celične odpornosti, pa je pomembno, da je kandidatki uspelo dokazati vezavo arzena na stresne beljakovine metalotioneine in identificirati šest metalotioneinskih subizoform na nivoju genske ekspresije. Potrdila je njihov koncentracijsko časovni odziv na arzenov trioksid, ki je bil najbolj izražen pri izoformah *1f, 2a* in *1x*. Z dobljenimi podatki o vezavi arzena na metalotioneine, o vplivu arzena na povečano sintezo posameznih metalotioneinskih izoform ter o znatni pretvorbi arzenovega trioksida v biološko manj aktivno obliko ob dodajanju askorbinske kisline, je kandidatkino delo pomemben prispevek k pojasnitvi nekaterih možnih problemov z učinkovitostjo arzenovega trioksida pri zdravljenju glioblastomov. Zato dr. Andreja Zelenik Pevec zaključuje, da terapevtska kombinacija arzenovega trioksida s farmakološkimi odmerki askorbinske kisline ni primerna, ker zmanjšuje privzem arzena v celice.

---

dr. PETRA PETELIN, mag. farm.

PROUČEVANJE VPLIVA STABILIZATORJEV IN DRUGIH POMOŽNIH SNOVI TER TEHNOLOŠKIH PARAMETROV NANONIZACIJE NA STABILNOST SLABO TOPNE UČINKOVINE V TRDNI FARMACEVTSKI OBLIKI

MENTOR:
izr.prof.dr. Janez Kerč, mag. farm.

SOMENTORICA:
raz.svet.dr. Simona Bohanec, univ. dipl. kem.

Doktorska disertacija dr. Petre Petelin je osredotočena na področje stabilnosti nanosuspenzij težko topne učinkovine sirolimusa v trdni farmacevtski obliki, pripravljeni z različnimi tehnološkimi postopki. Glavni cilji naloge so bili proučiti ključne razkrojne produkte sirolimusa in poti njihovega nastanka in primerjava profilov razkrojev v končni farmacevtski obliki v različnih stopnjah tehnološkega postopka in z različnimi fizikalnimi oblikami učinkovine. Doktorandka je preučevala kompatibilnost učinkovine s potencialnimi pomožnimi snovmi in kemijsko stabilnost sirolimusa v obliki nanosuspenzij z vidika razgradnje učinkovine in določitve razkrojnih produktov s kromatografskimi metodami, fizikalne lastnosti nanosuspenzij pa je vrednotila z meritvami porazdelitve velikosti delcev, zeta potenciala in SEM analizo. Potrdila je hipotezo, da izbira pravega stabilizatorja in drugih pomožnih snovi ter ustreznega tehnološkega postopka nanonizacije in izdelave končne farmacevtske oblike značilno vpliva na stabilnost težko topne učinkovine sirolimusa. Dokazala je tudi, da med rezultati študij pospešene in dolgoročne stabilnosti obstaja korelacija ter da lahko na osnovi kratkotrajnejših študij na povišani temperaturi in vlagi napovemo dolgoročno stabilnost tablet. Doktorska disertacija predstavlja izvirne prispevke k znanosti, od katerih so bile

nekatere tudi že objavljene v mednarodnih znanstvenih revijah s faktorjem vpliva. Delo in rezultati dr. Petre Peterlin lahko v prihodnosti pripomorejo k znanstveno podprtemu načrtovanju stabilnih farmacevtskih oblik s tako ali podobno sestavo, osnovano na nanonizaciji težko topne učinkovine.

dr. JANJA ZUPAN, mag. farm.

VPLIV VNETNIH CITOKINOV NA SISTEM DEJAVNIKOV RANK/RANKL/OPG V KOSTNEM TKIVU PRI BOLNIKIH Z OSTEOPOROZO IN OSTEOARTROZO

MENTORICA:
prof.dr. Janja Marc, mag.farm., spec. med. biokem.

S pojavom vede osteoimunologije so začeli obravnavati imunski in kostni sistem kot enovito celoto in dajati poudarek na vnetni komponenti v patogenezi kostnih bolezni npr. pri osteoporozi (OP) in osteoartrozi (OA). Vnetni citokini (interleukini in interferoni), vplivajo na kostne celice verjetno preko modulacije sistema dejavnikov RANK/RANKL/OPG in s tem verjetno regulirajo kostno presnovo. Vplivi med kostnim in imunskim sistemom so kompleksni in so bili dokazani večinoma *in vitro* in na transgenih živalskih modelih, njihova razjasnitev v humanem kostnem tkivu še ni bila proučevana. Namen doktorske naloge je bil ovrednotiti vlogo vnetnih citokinov pri patogenezi OP in OA ter določiti interakcije genskih sprememb nekaterih citokinov z OP fenotipom.

Doktorska disertacija je napisana v obliki petih poglavij. V prvem poglavju so v preglednem članku predstavljena znana dejstva o vplivu vnetnih citokinov na osteoklaste. Drugo poglavje predstavlja eksperimentalni članek, ki podaja oceno kvalitete kostnine s trenutno najbolj točno metodo t.j. z mikro računalniško tomografijo (µCT). Uvedba te metode je bila izrednega pomena za pravo vrednotenje genetskih vplivov in vplivov posameznih citokinov, ki je v doktorski nalogi sledilo. Tretje in četrto poglavje predstavljata eksperimentalna članka, kjer je kandidatka dokazovala povezanost izražanja genov ter DNA sprememb v genih za vnetne citokine, njihove receptorje in izbrane osteoklastne gene z vsemi aktualnimi kostnimi fenotipi kot npr. z MKG, biokemijskimi kazalci kostne presnove ter strukturnimi parametri kostnine. Zadnje, peto poglavje pa predstavlja članek o povezanosti genskih interakcij med vnetnimi citokini in komponentami sistema RANK/RANKL/OPG, ki je najpomembnejši regulator kostne presnove. Na osnovi rezultatov je Janja Zupan potrdila pomemben vpliv vnetnih citokinov na kostno presnovo ter tako doprinesla k pojasnitvi genetskih izhodišč v patogenezi OP in OA. Pomagala je k razkritju novih molekul, ki bi lahko predstavljale potencialne tarče za zdravila in/ali diagnostiko teh kostnih bolezni.

Rezultati dr. Janje Zupan na področju osteoimunologije so pomembni in mednarodno primerljivi, kar je razvidno iz njene bibliografije, ki jo sestavljajo trije članki objavljeni v revijah z IF ter dva članka, ki sta poslana v objavo. Del rezultatov doktorske naloge je predstavila z vabljenim predavanjem ter v obliki dve posterjev na mednarodnih srečanjih.

dr. BLAŽ VEHAR, mag. farm.

UPORABA MOLEKULARNEGA MODELIRANJA PRI NAČRTOVANJU ENCIMSKIH INHIBITORJEV KOT POTENCIALNIH PROTIBAKTERIJSKIH UČINKOVIN

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

SOMENTORICA:
prof. dr. Dušanka Janežič, univ. dipl. ing. matematike

Predmet disertacije dr. Blaža Veharja je razvoj in uporaba metod molekularnega modeliranja pri načrtovanju novih inhibitorjev bakterijskih encimov s poudarkom na D alanil-D alanin ligazi. Kandidat je v svojem delu združil različne računalniške pristope za odkrivanje novih zdravilnih učinkovin: virtualno rešetanje, iskanje inhibitorjev po podobnosti z znanimi aktivnimi spojinami, primerjalno modeliranje, napovedovanje proteinskih vezavnih mest z lokalnim strukturnim prileganjem ter simulacije molekulske dinamike za

napoved mehanizma konformacijskih sprememb znotraj tarčnih encimov. Istovetnost in čistost ligandov ter njihovo encimsko inhibitorno in protimikrobno delovanje je ugotavljal s pomočjo partnerjev s Fakultete za farmacijo v Ljubljani in z Univerze v Leedsu. Blaž Vehar je v doktorskem delu predstavil in analiziral različne pristope pri odkrivanju novih inhibitorjev D alanil-D alanin ligaze (DdlB). Dva izmed tako odkritih inhibitorjev, derivata elipticina in 9 aminoakridina, ki sta bila aktivna tudi na protimikrobnih preizkusih, je kandidat uporabil kot izhodišče za iskanje spojin s podobnimi strukturami. Elipticinski skelet je uporabil tudi kot izhodišče za sintezo serije strukturnih analogov, med katerimi so bile zelo aktivne spojine s kvarternim metilpiridinijevim obročem in ugotovil, da omenjeni inhibitorji delno delujejo po nespecifičnem mehanizmu destabilizacije celičnih membran. Nadalje je kandidat opisal konformacijski premik v DdlB, ki poteka sočasno z vezavo substratov v aktivno mesto encima. Znotraj C-terminalne domene encima obstaja zanka, ki med potekom reakcije pokriva aktivno mesto encima, sicer pa je njena struktura odprta in obdana z molekulami topila. Odkril je šest novih mikro- do milimolarnih inhibitorjev DdlB, za katere je zaradi zasedenosti vezavnega mesta za ATP med virtualnim rešetanjem napovedal selektivno vezavo v bimolekularno vezavno mesto za D-alanin. Kandidat je v programskem jeziku Python razvil računalniški program za hierarhično zbiranje zadetkov virtualnega rešetanja v skupke. S tem je v postopek izbire nabora spojin za laboratorijsko preučevanje vpeljal kriterij medsebojne različnosti spojin, katerega strogost lahko poljubno prilagaja potrebam posamezne raziskave. Sodeloval je tudi pri razvoju in analizi nove metode lokalnega strukturnega prileganja (LSA) za napovedovanje vezavnih mest na proteinih, ki temelji na iskanju evolucijsko ohranjenih delov proteinskih površin. Metoda je neodvisna od aminokislinskih zaporedij primerjanih proteinov in računa podobnosti v površinskih strukturah proteinov z algoritmom za iskanje maksimalnih klik v proteinskih produktnih grafih. DR. Blaž Vehar je dosežke s področja teme doktorske disertacije objavil v petih člankih v mednarodno priznanih revijah najvišjega ranga, ki jih indeksira SCI. Kandidat je pri enem članku prvi avtor. Njegove objave so bile 22-krat čisto citirane. Najodmevnejše delo je že 17-krat čisto citirano.

dr. MARTINA GOBEC, mag. farm.

VREDNOTENJE SINTEZNIH INHIBITORJEV SERINSKIH PROTEAZ KOT INDUKTORJEV APOPTOZE IN MODULATORJEV IMUNSKEGA ODZIVA

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

Poglavitni namen doktorske disertacije je bil identificirati in biološko ovrednotiti sintezne inhibitorje serinskih proteaz, ki so sposobni sprožiti proces apoptoze in modulirati imunski sistem. Doktorska disertacija je pisana v obliki 6. originalnih znanstvenih člankov z razširjenim povzetkov v slovenskem jeziku. V uvodu avtorica predstavi proces apoptoze in razloži njen fiziološki ter patofiziološki pomen. Nadalje razlaga modulacijo proliferacije in apoptoze preko signalne poti transkripcijskega faktorja NFκB ter naslovi nekatere modulatorje tega procesa.

V prvem poglavju z naslovom Spojine z amidinopiperidniskim skeletom so selektivno citotoksične za celice Burkittovega limfoma, kandidatka ovrednoti nabor 16 spojin. Za spojine z N-amidinopiperidinskim skeletom dokaže selektivno citotoksičnost na celice Burkittovega limfoma, ter dokaže molekularni mehanizem, ki poteka preko NFκB signalne poti in inhibicije proteolitične aktivnosti proteasom (rezultati so objavljeni v reviji Plos One).

V drugem poglavju predstavi farmakogenomski pristop k iskanju tarč inhibitorjev serinskih proteaz. Ugotovi, da je fenoksibenzamin, antagonist α-adrenergičnih receptorjev, selektivno citotoksičen za celice Burkittovega limfoma. V tretjem poglavju z naslovom Vrednotenje imunomodulatornih lastnosti inihbitorja proteasoma z N-amidinopipreidinskim skeletom ovrednoti vpliv izbrane spojine na imunski sistem. Dokaže, da izbrana spojina ne vpliva na preživetje ali diferenciacijo dendritičnih celic. (Oba segmenta sta pripravljena za objavo).

V četrtem predstavi vlogo prostaglandinskega receptorja EP4 v nezrelih limfocitih B in dokaže, da predstavlja EP4 potencialno tarčo v razvoju terapije avtoimunih boleznih kot tudi levkemij in limfomov (objavljeno v Journal of Pharmacy and Pharmacology). V petem in šestem poglavju predstavi

imunomodulatorne lastnosti desmuramildipeptidnih spojin. Identificira spojine z imunostimulatornim učinkom, ki bi delovale kot adjuvansi (objavljeno v: European Journal of Medicinal Chemistry, in Journal of Medicinal Chemistry).

Izvirnost raziskovalnega dela dr. Martine Gobec je v odkrivanju in vrednotenju novih tarčnih molekul, ki služijo za ciljan razvoj učinkovin – modulatorjev apoptoze in s tem novih pristopov pri zdravljenju malignih in avtoimunih obolenj.

---

dr. MAJA ŠANTL, mag. farm.

VPLIV NAČINA AGLOMERIRANJA TRDNIH DELCEV NA PROCES STISKANJA IN LASTNOSTI TABLET

MENTORICA:
izr. prof. dr. Saša Baumgartner, mag. farm.

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

Doktorska disertacija Maje Šantl sodi na področje farmacevtske tehnologije. Doktorandka si je za izhodišče svojega raziskovalnega dela postavila kompresibilnost in kompaktibilnost zmesi pomožnih snovi in vpliv postopkov aglomeriranja teh zmesi na njihove mehanske lastnosti. Tako kompresibilnost kot kompaktibilnost zmesi prahov sta pomembna parametra v stroškovno učinkoviti proizvodnji kakovostnih trdnih farmacevtskih izdelkov izdelanih s stiskanjem.

V prvem delu raziskovalnega dela je doktorandka preučila vpliv različnih načinov aglomeracije na mehanske lastnosti zmesi za tabletiranje izdelanih v polindustrijskem merilu, t.j. njihovo kompresibilnost in kompaktibilnost. Ugotovila je, da doseže najboljše mehanske lastnosti zmesi z njihovo aglomeracijo v zvrtinčenih plasteh. Dokazala je tudi linearno povezavo med Hecklovim in Walkerjevim modelom napovedovanja stisljivosti, pri čemer je slednji izkazal večjo diskriminatornost v napovedovanju kompresibilnosti.

V nadaljevanju raziskovalnega dela je preučila vpliv velikosti delcev zmesi za tabletiranje izdelane z direktnim mešanjem izbranih ingredienc oz. z njihovo predhodno aglomeracijo, na njene mehanske lastnosti. Ugotovila je, da velikost delcev zmesi ne vpliva bistveno na kompresibilnost zmesi, bistveno pa vpliva na njeno kompaktibilnost. Dokazala je, da lahko z večjimi delci doseže višjo natezno trdnost, nižjo krušljivost in nižji delež elastične relaksacije stisnjenih tablet.

V zadnjem delu raziskovalnega dela, pa se je posvetila študiju vpliva velikosti delcev polnila/veziva, kot bistvene pomožne snovi v izbrani formulaciji zmesi za tabletiranje, na njeno stisljivost. Ugotovila je, da velikost delcev uporabljenega večfunkcionalnega veziva nima pomembnega vpliva na kompresibilnost in kompaktibilnost zmesi za tabletiranje, izdelane z aglomeracijo zmesi prahov v zvrtinčenih plasteh, pri čemer ta ugotovitev velja za relativno majhne razlike v velikosti delcev komercialno dostopnih tipov izbranega veziva.

Doktorsko delo Maje Šantl predstavlja primer znanstveno-raziskovalnega pristopa reševanja konkretnih izzivov razvoja in proizvodnje farmacevtskih izdelkov in s tem zasledovanje modernih trendov v farmacevtski industriji kot je implementacija »Quality by Design«.

Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je oz. bo dr. Maja Šantl objavila v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah s faktorjem vpliva ter o njih poročala na mednarodni znanstveni konferenci.

---

dr. TANJA VEHOVEC, mag. farm.

VPLIV S FUNKCIONALNOSTJO POVEZANIH IN OSTALIH LASTNOSTI MIKROKRISTALNE CELULOZE NA STABILNOSTNI PROFIL ZDRAVILNIH UČINKOVIN

MENTOR:
izr. prof. dr. Aleš Obreza, mag. farm.

Doktorska naloga Tanje Vehovec sodi na področje analize in stabilnosti zdravil. To je področje farmacije, ki zagotavlja, da bolnik v deklariranem časovnem obdobju prejme kvalitetno, učinkovito in varno zdravilo. Zdravilo sestavlja ena ali več zdravilnih učinkovin in običajno večje število pomož-

nih snovi, ki vstopajo v medsebojne interakcije, kar lahko privede do resnih težav s stabilnostjo končnega zdravila. Tanja Vehovec se je v okviru svoje doktorske disertacije osredotočila na proučevanje vpliva s funkcionalnostjo povezanih (FRC) in drugih fizikalno-kemičnih in površinskih lastnosti mikrokristalne celuloze, kot ene izmed najpogosteje uporabljanih pomožnih snovi, na stabilnost zaviralcev angiotenzin-konvertaze erbuminijevega perindoprilata in enalaprilijeva maleata. Poleg tega je uspešno razvila analizne metode in postopke in ovrednotila njihovo uporabnost pri proučevanju stabilnosti izbranih zdravilnih učinkovin v stiku z mikrokristalno celulozo. Z eksperimentalnim delom je na izviren način preučevala vpliv mikrokristalne celuloze na stabilnost zdravilnih učinkovin v binarnih zmeseh. Z merjenjem in identifikacijo nastalih razpadnih produktov je dokazala, da lahko minimalne razlike v lastnostih raznih tipov MMC istega ali različnih proizvajalcev bistveno vplivajo na stabilnost ZU. Iz primerjave in kritičnega ovrednotenja rezultatov posameznih eksperimentov in rezultatov meritev fizikalno-kemičnih lastnosti pomožnih snovi je dokazala kompleksnost strukture mikrokristalne celuloze in procesov, ki potekajo na njeni površini. Parametre, ki opisujejo površinske lastnosti preiskovanih tipov mikrokristalne celuloze, kot so na primer sorpcijsko-desorpcijske izoterme, nespecifične interakcije, kislinske in bazične konstante, LOD, pH vodnih suspenzij, velikost delcev, specifična površina, bi tako lahko opredelili kot FRC lastnosti. Izsledke svojih raziskav je dr. Tanja Vehovec predstavila v treh izvirnih znanstvenih člankih in eni evropski patentni prijavi.

---

dr. SIMON KUKEC, mag. farm.

RAZISKAVE AGLOMERACIJE KARVEDILOLA S TALINAMI V ZVRTINČENIH PLASTEH

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

SOMENTOR:
doc. dr. Rok Dreu, mag. farm.

Doktorska disertacija Simona Kukca sodi na področje farmacevtske tehnologije. Doktorand je svoje raziskovalno delo usmeril v študij aglomeracije karvedilola s talinami s čimer je želel primarno doseči izboljšanje hitrosti raztapljanja in izboljšanje njegove procesibilnosti v izdelavi tablet. Karvedilol je zdravilna učinkovine iz skupine antihipertenzivov, ki sodi v obsežno skupino slabo topnih a dobro permeabilnih zdravilnih učinkovin, pri katerih je hitrost absorpcije pogojena z njihovo topnostjo oz. hitrostjo raztapljanja v fizioloških pogojih.

Doktorand je razdelil svoje eksperimentalno delo v več sklopov v katerih je raziskoval procese aglomeracije izbrane zdravilne učinkovine kot tudi lastnosti v omenjenih procesih nastalih aglomeratov oz. granul ter trdnih farmacevtskih oblik izdelanih na njihovi osnovi.

S poglobljeno primerjalno študijo procesnih in formulacijskih spremenljivk aglomeracije s talino veziv ter lastnosti izdelanih granul, kot površinska energija, močljivost, hitrost raztapljanja, kemijsko mapiranje granul idr., je doktorand uspel doseči želeno povečano hitrost raztapljanja ter spremenjene farmacevtsko-tehnološke parametre aglomerirane učinkovine. Hkrati je potrdil, da je povečana hitrost raztapljanja karvedilola pogojena z njegovo povečano močljivostjo, ki je hkrati posledica razprostiranja hidrofilnega veziva po hidrofobni površini delcev karvedilola. Hkrati je v procesih aglomeracije uspešno preskusil »in procesno« vrednotenje rasti granul ter določitev končne točke aglomeracije z metodama za realno-časovno vrednotenje velikosti delcev t.j. FBRM in SFT sond. Doktorand je uspešno preskusil uporabnost omenjenih »in line« metod v optimizaciji prenosa tehnologije aglomeracije v talini med po velikosti in tipu različnimi vrtičnoslojnimi granulirniki. V zadnjem delu eksperimentalnega dela je dokazal, da lahko s postopkom sekundarne obdelave aglomeratov, t.j. z oblaganjem s talino lipofilnih snovi doseže upočasnjeno sproščanje karvedilola, kar bi omogočilo bolnikom prijaznejšo enkrat-dnevno aplikacijo zdravila. Posebna vrednost njegovih rezultatov je v uspešni določitvi procesnih pogojev, ki zagotavljajo, da ne prihaja do sprememb v lastnostih primarnih aglomeratov pri sekundarnem oblaganju s talino lipofilne pomožne snovi.

Doktorsko delo dr. Simona Kukca predstavlja primer znanstveno-raziskovalnega pristopa reševanja konkretnih izzivov razvoja farmacevtskih izdelkov, ki temelji na principu »Quality by Design«. Rezultate svojega raziskovalnega dela v okviru doktorata je oz. bo objavil v več izvirnih raziskovalnih člankih v revijah s faktorjem vpliva ter o njih poročal na mednarodni znanstveni konferenci.

IZ DRUŠTVENEGA ŽIVLJENJA

ACTIVITIES OF THE SOCIETY

AVTOR / AUTHOR:
Jelka Dolinar

38. SKUPŠČINA SFD

Simpozij SFD ob 38. skupščini je tudi letos potekal v kongresnem centru Bernardin v Portorožu od 16. do 18. maja 2013. Program je obsegal tri strokovne teme:

- četrtek, 16. maj 2013, popoldan:
  Sodobni vidiki uporabe zdravilnih rastlin
- petek, 17. maj 2013, cel dan:
  Sodobna obravnava astme
- sobota, 18. maj 2013, dopoldan:
  Okrogla miza - Farmacevtske kognitivne storitve pri zdravljenju z zdravili

Strokovni program je obogatil družabni del srečanja, ki smo ga povezali s podelitvijo društvenih priznanj v četrtek zvečer v Tartinijevem gledališču v Piranu in s podelitvijo priznanja »Naj-lekarna za leto 2013« po izboru bralcev revije Dnevnik.

38. letna skupščina je izvolila novo vodstvo Društva. V volilnem letu se dr. Gašper Marc ni odločil za ponovno kandidaturo za predsednika Društva, kljub številnim pobudam s strani podružnic in sekcij, ki so mu izrazile veliko podporo in željo, da nadaljuje z vodenjem Društva. S strpnim dialogom, strokovno širino in doslednostjo je dr. Marc krepil ugled Društva. S svojimi nastopi je pridobil široko zaupanje strokovne javnosti. Na predlog Mariborske podružnice je 38. skupščina za njegovega naslednika izvolila Matjaža Tuša, ki je svojo vizijo delovanja SFD v naslednjem mandatu predstavil z besedami:

Slovensko farmacevtsko društvo je dobro organizirano, urejeno, učinkovito in uspešno prostovoljno strokovno združenje, na katerega smo člani lahko upravičeno ponosni. Naloge in cilje, opredeljene v Pravilih SFD uresničuje z organizacijo znanstvenih in strokovnih dogodkov, s publicistično dejavnostjo, z družabnimi prireditvami ter s povezovanjem s sorodnimi združenji, društvi, ustanovami in organizacijami. To so ključna področja, na katerih je treba graditi tudi v prihodnje, da bo društvo v največji možni meri izpolnjevalo pričakovanja in interese svojih članov. Potrebe po bistvenih spremembah ali odmikih od smeri, ki jo je Društvo začrtalo pod predsedovanjem dr. Gašperja Marca, ni, vendar to ne pomeni, da se Društvo ne bo odzivalo na spremembe v okolju ali, kadar bo to potrebno, prevzelo proaktivne vloge. Ocenjujem, da je Društvo dovolj fleksibilno, da se lahko hitro in preudarno odziva in da je kultura dialoga dovolj močno zasidrana med člani, da bodo sprejete odločitve temeljile na visoki stopnji konsenza.

V luči obetajočih se sprememb na področju licenc mora biti fokus Društva usmerjen na ustrezno vrednotenje strokovnih in znanstvenih dogodkov, ki jih Društvo organizira na mednarodni, nacionalni in lokalni ravni. Pričakujem, da bo nosilec javnega pooblastila za podeljevanje, podaljšanje oziroma odvzem licenc Lekarniška zbornica Slovenije, s katero bo treba okrepiti sodelovanje tudi na tem področju. Društvo ne sme dopustiti, da bi bila usposabljanja in izpopolnjevanja, ki jih Društvo organizira na visoki strokovni ravni, nesorazmerno upoštevana ali celo spregledana pri vrednotenju. Ne glede na to bo treba nadaljevati s skrbnim spremljanjem števila udeležencev na tovrstnih dogodkih ter njihovega zadovoljstva glede izbora vsebin, uporabnosti in načina predstavitve. Zaradi zaostrenih gospodarskih, finančnih in v nekaterih lokalnih okoljih tudi političnih razmer obstaja možnost, da se bo v prihodnje število udeležencev na dogodkih z udeležnino nekoliko zmanjšalo. Če bo upad prerastel v trend, bo potrebno obstoječi model, ustrezno spremeniti in ponuditi možnost pridobivanja znanj in informacij tudi s pomočjo sodobnih informacijskih tehnologij.

Na področju publicistične dejavnosti je bila pravkar izvedena vsebinska in grafična prenova Farmacevtskega vestnika. Mislim, da smo na dobri poti, da to strokovno glasilo približamo večinskemu članstvu in pri tem ohranimo ustrezno strokovno raven. Nacionalni bilten o zdravilih Farmakon, ki ga izdajata Slovensko farmacevtsko društvo in Slovensko zdravniško društvo v sodelovanju z JAZMP, v bližnji prihodnosti verjetno ne bo doživel bistvenih spre-

memb, treba pa bo imenovati novega urednika Farmacevtskega informacijskega centra in jasno opredeliti in razdeliti naloge med člane uredniškega odbora. FIC v prihodnosti vidim kot kritično jedro, ki bo sposobno prevzeti oziroma koordinirati e-oblike usposabljanja, če se bo to izkazalo kot potrebno.

Društvo mora tudi v prihodnje ohraniti družabne dogodke. Člani morajo imeti priložnost, da srečajo svoje kolege tudi izven spon formalnih dogodkov, da stkejo nova poznanstva in okrepijo stara prijateljstva. S tem se povečuje povezanost med kolegi ter pripadnost poklicu in Društvu. To je za uresničevanje ciljev in nalog Društva zelo pomembno, zato si moramo prizadevati, da kljub omejenim finančnim virom, ohranimo to dejavnost. Bo pa verjetno v prihodnje treba izvesti določene racionalizacije in obseg prilagoditi finančnim možnostim.

Od finančnih možnostih bo odvisna tudi dinamika zaključnih del in opremljanja novih poslovnih prostorov Društva. Glede na trenutne razmere ocenjujem, da v tem mandatu z deli ne bo moč pričeti.

Delegati 38. Skupščine so potrdili IO SFD in izvolili organe SFD za mandat 2013-2015:

	IZVRŠNI ODBOR SFD
predsednika SFD	Matjaž Tuš
Podružnice	
Celjska podružnica	Nataša Čater
Dolenjska podružnica	Mirjana Dragoš
Gorenjska podružnica	Valerija Bezjak
Ljubljanska podružnica	Vladka Češek Bizjak
Mariborska podružnica	Maja Petre
Pomurska podružnica	Damir Domjan
Posavska podružnica	Tadeja Pavlin
Primorska podružnica	Samo Mahovič
Zasavska podružnica	Sabina Drobnič
Sekcije	
Homeopatska sekcija	Tanja Šegula – članica IO Maruša Hribar – predsednica Sekcije
Sekcija bolnišničnih farmacevtov	Franci Tratar
Sekcija farmacevtskih tehnologov	Rok Dreu
Sekcija farmacevtskih tehnikov	Karmen Grom
Sekcija farmacevtskih znanosti	Aleš Obreza
Sekcija kliničnih farmacevtov	Alenka Premuš Marušič
Sekcija farmacevtov javnih lekarn	Miroslava Abazović
Sekcija seniorjev	Marija Vrtačnik
Sekcija študentov	Maja Seršić
Sekcija za farmacevtsko kemijo	Marko Anderluh
Regulatorna sekcija	Smilja Milošev

NADZORNI ODBOR
Gašper Marc
Dionizij Petrič
Marina Urbanc

DISCIPLINSKO SODIŠČE
Simona Mitrovič
Slavko Pečar
Ivan Remškar

ODBOR ZA PODELJEVANJE DRUŠTVENIH PRIZNANJ
Simona Cencelj
Darja Frankič
Sabina Grm
Tatjana Kogovšek Vidmar
Julijana Kristl
Darja Potočnik Benčič
Zofija Vitkovič

IZDAJATELJSKI SVET
Cvetka Bačar Bole
Polonca Fiala
Janez Ilaš
Mitja Kos
Nina Pisk
Sonja Rupret
Franc Vrečer

Odgovorni urednik Farmacevtskega vestnika:
Borut Štrukelj
Glavna urednica Farmacevtskega vestnika:
Petra Slanc Može
Glavna urednica Farmakona:
Marija Sollner Dolenc

Društvena priznanja v letu 2013

Izvršni odbor SFD je na 38. skupščini podelil 5 Minařikovih priznanj, ki so jih prejele

mag. Miroslava Abazović, mag. farm., spec.
Mirjana Dunjić Lapuh, mag. farm.
Sonja Kragelj Rupret, mag. farm., spec.
Alenka Premuš Marušič, mag. farm., spec.
Slavica Šešek Oblak, mag. farm., spec.

Prejemnice priznanj med prireditvijo.

Priznanja sta izročila dr. Gašper Marc in prof. dr. Aleš Mrhar, predsednik Odbora za podeljevanje društvenih priznanj, ki je obrazložitve tudi prebral.

Iz obrazložitve predloga Dolenjske podružnice SFD povzemam sledeče:
Magistrica znanosti **Miroslava Abazović**, specialistka farmakoinformatike, se je po diplomi na Fakulteti za farmacijo zaposlila v Dolenjskih lekarnah. Poleg dela, ki ga opravlja na svojem delovnem mestu, vedno išče nove izzive. Vlogo lekarniškega farmacevta vidi tudi izven lekarne v širši družbi, zato predava o pravilni in varni uporabi zdravil in varovanju zdravja v šolah, različnih društvih ter piše prispevke za časopise. Aktivno sodeluje pri organizaciji in izvedbi Dneva slovenskih lekarn v svojem delovnem okolju, zadnja leta pa tudi v okviru Sekcije farmacevtov javnih lekarn, kjer je bila zadnji dve leti urednica knjižic Zdravila in samozdravljenje ter Zdravila in kronični bolniki. Je tudi avtorica dveh poglavij v priročniku Samozdravljenje. Z letošnjim letom je prevzela vodenje Sekcije farmacevtov javnih lekarn, zato je upravičeno pričakovati, da bo tudi v bodoče znatno prispevala k prepoznavnosti poklica lekarniškega farmacevta in lekarništva nasploh.

Iz obrazložitve predloga Mariborske podružnice SFD povzemam sledeče:
Magistra **Mirjana Dunjić Lapuh** svoje bogato strokovno

V imenu prejemnic priznanj se je zahvalila mag. Abazović.

znanje in izkušnje, ki si jih je nabrala v več kot treh desetletjih dela v lekarni, nesebično deli z drugimi. Kot vodja mentorjev v Lekarnah Ptuj je pripravila interni program izvajanja pripravništva in program praktičnega usposabljanja dijakov in študentov farmacevtske smeri, sodelovala pa je tudi pri zasnovi nacionalnega programa praktičnega usposabljanja dijakov. V svoji karieri je vzgojila veliko dobrih in strokovno močnih farmacevtov in farmacevtskih tehnikov. Je pobudnica ideje o predstavitvi poklica lekarniškega farmacevta kot kompetentnega svetovalca za zdravje in boljšo kvaliteto življenja v rubriki Zdravstveni nasveti v lokalnem časopisu Štajerski tednik in na lokalnem radiu. Magistra Mirjana Dunjić Lapuh se je podpisala pod več kot 30 prispevkov, k pisanju pa spodbuja tudi mlajše kolege. Kot članica delovne skupine pri LZS je sodelovala pri pripravi Kataloga kompetenc magistra farmacije v lekarniški dejavnosti.

Mag. Dunjić Lapuh in predsednik SFD.

Iz obrazložitve predloga Sekcije kliničnih farmacevtov SFD povzemam sledeče:

Magistra **Alenka Premuš Marušič**, specialistka klinične farmacije, je ena najbolj prepoznavnih kliničnih farmacevtk v Sloveniji. S svojim strokovnim delom je pričela takoj po zaposlitvi v SB Murska Sobota. Pripravila je Priporočila za oskrbo kronične rane, oblikovala je Naročilnico za rezervna protimikrobna zdravila, pripravila je Priporočila za pravilno predpisovanje nizkomolekularnih heparinov, je soavtorica knjižice Pogled magistra farmacije na oblikovanje optimalne terapije v bolnišnici, največji preboj pa je dosegla v letu 2012, ko je postala vodja projekta ZZZS Farmacevt-svetovalec. S tem ima prvič v zgodovini farmacije v Sloveniji specialist farmacevt samostojno ambulanto v Zdravstvenem domu in v Domu starejših občanov, k njemu prihajajo bolniki z napotnicami zdravnikov družinske medicine, izvidi farmacevta pa so enakovredni izvidom specialistov medicinskih strok. Je tudi predavateljica na strokovnih izobraževanjih za farmacevte in zdravnike v okviru SFD, LZS ter Schrottovih in Zadravčevih dni. Vpeta je tudi v pedagoške aktivnosti, je področni mentor specializantom in predavateljica na dodiplomskih in podiplomskih kurzih na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani, svojo raziskovalno pot pa nadaljuje s študijem na doktorskem programu Biomedicina. Z letošnjim letom je prevzela vodenje Sekcije za klinično farmacijo in v tej vlogi tudi že uspešno organizirala 3. simpozij sekcije. Njeno kandidaturo je podprla tudi Pomurska podružnica.

Mag. Alenka Premuš Marušič in predsednik SFD.

Iz obrazložitve predloga Celjske podružnice SFD povzemam sledeče:

Magistra **Sonja Rupret** je diplomirala leta 1981 na tedanjem Oddelku za farmacijo FNT. Leta 2005 je uspešno zaključila specializacijo iz lekarniške farmacije. Kolegica Rupret se že leta uveljavlja v strokovnem in lokalnem okolju kot prepoznavna promotorka zdravja, zdravega načina življenja ter pravilnega zdravljenja z zdravili in samozdravljenja. Pri tem vseskozi uspešno promovira poklic in dejavnost farmacevta tudi s predstavitvami otrokom v vrtcu in v osnovni šoli, s predavanji za strokovno in laično javnost ter s sodelovanjem z lokalnimi mediji. S svojimi prispevki je sodelovala tudi pri pripravi Priročnika za samozdravljenje, ki ga je izdalo SFD. Je pobudnica, koordinatorica in moderatorka Točk zdravja Celjskih lekarn, kjer farmacevti že leta mesečno pripravljajo dobro obiskana predavanja za zainteresirano laično javnost. S svojim predanim opravljanjem poklica je kolegica vzor mlajšim sodelavcem, s katerimi se srečuje kot mentorica. Aktivno sodeluje tudi pri izbiri vsebin za spletno stran Celjskih lekarn, kjer je zaposlena že več kot trideset let.

Mag. Sonji Rupret je čestital kandidat za predsednika SFD, mag. Matjaž Tuš.

Iz obrazložitve predloga Ljubljanske podružnice SFD povzemam sledeče:

Magistra **Slavica Šešek** je dolga leta uspešno prenašala svoje široke strokovne izkušnje na sodelavce farmacevte, zdravnike in ostale zdravstvene delavce, danes pa prenaša svoje znanje pacientom pri svetovanju v lekarni. Kot specialist tehnolog in kot vodja enote Kompletne parenteralne prehrane Lekarne UKC Ljubljana in kasneje v Lekarni ginekološke klinike UKC Ljubljana je skrbela za koordinacijo in izvajanje del in tudi uspela vzpostaviti timski duh dela, kar se je kazalo tako v dobrih rezultatih kot v visoki motiviranosti in strokovnosti sodelavk. Skrbela je za povezave s številnimi zdravniki in medicinskimi sestrami in tako omogočala stalno izobraževanje in izpopolnjevanje ter izboljševanje pogojev dela ne samo v lekarni, temveč tudi na kliničnih oddelkih

UKC, s katerimi je sodelovala. Je tudi avtorica in soavtorica številnih člankov s področja farmacevtske tehnologije in priprave kompletne parenteralne prehrane. Bila je tudi mentorica številnim pripravnikom za naziv magistra farmacije in specializantom farmacevtske tehnologije in klinične farmacije. V 37 letih službovanja je z jasnim izražanjem in pokončno osebno držo doprinesla tudi k prepoznavnosti strokovnosti in etičnosti poklica lekarniškega farmacevta v slovenskem prostoru. Njeno kandidaturo je podprla tudi Sekcija seniorjev SFD.

Mag. Šešek med branjem utemeljitve.

Mag. Davorin Poherc, direktor Kemofarmacije, dr. Matej Breznik, direktor JAZMP in dr. Gašper Marc, predsednik SFD.

Prof. dr. Borut Štrukelj, predsednik strokovno-organizacijskega odbora simpozija in mag. Damir Domjan, predsednik SiFarma.

Prejemnice priznanj za leto 2013.

IZ DRUŠTVENEGA ŽIVLJENJA

ACTIVITIES OF THE SOCIETY

AVTOR / AUTHOR:
Vladka Češek Bizjak, mag. farm.
Predsednica Ljubljanske podružnice

ŠPORTNE IGRE 2013

Športne igre SFD so letos prvič potekale v organizaciji Ljubljanske podružnice in sicer 15. junija v Preddvoru. Bila je prva lepa sobota po dolgotrajnem mrazu in preživeli smo jo v prelepem okolju med hribi in jezerom.

V dopoldanske času smo se razdelili v štiri skupine. Udeleženci so lahko izbirali med različnimi aktivnostmi: od pohoda, do teka, nordijske hoje ali kolesarjenja.

Pohodniki smo se povzpeli na Sv. Jakoba in pod vodstvom prof. dr. Krefta spoznavali rastline ob poti. Tekači so se seznanili s pravilno tehniko teka in ogrevanja, nazadnje pa so s pomočjo športnih strokovnjakov svoj tek analizirali preko video posnetka. Udeleženci nordijske hoje so se udeležili tečaja pravilne nordijske hoje po prelepi okolici. Ostali so se podali na kolesarski izlet, ki je bil dolg približno 38 km. Po odličnem skupnem kosilu smo skupaj zaplesali pod vodstvom študentke Tjaše in se ob tem zelo zabavali. Popoldan smo se pomerili v pikadu in odbojki na mivki. Odlična glasba nas je družila vse do večera.

Zahvaljujem se donatorjem, sponzorjem in vsem udeležencem , s katerimi smo preživeli prijeten dan. Želimo si, da bi se prihodnje leto zopet srečali.

Pohodniki

Kolesarji

Udeleženci tečaja nordijske hoje

OSEBNE VESTI

PERSONAL NEWS

AVTOR / AUTHOR:
Marjan Balkovec v imenu članov Dolenjske podružnice

POSLOVIL SE JE MAG. FARMACIJE MILAN DUJEC

V 91. letu življenja se je poslovil najstarejši in ustanovni član Dolenjske podružnice SFD, ki je v lanskem letu slovesno praznovala 60. obletnico svoje ustanovitve. V Črnomelj je prišel po dekretu daljnega leta 1949. Takoj je prevzel vodenje takrat podržavljene lekarne, ki je delovala v zasilnih prostorih v med vojno porušenem mestu.

Rojen je bil leta 1922 v Mariboru v družini, kjer je bil najmlajši med petimi otroki. Njegova družina izvira iz Primorske in se je umaknila pred Italijani v Maribor. Med vojno je bil 15 mesecev zaprt v znanem taborišču Gonars, nato se je pridružil partizanom. Takoj po vojni se je odločil za študij farmacije. Začetne izkušnje je pridobival v lekarni Kranj. Politiki so ga hoteli postaviti za vodjo lekarne Kranj, a tega ni hotel, ker se je počutil premalo izkušenega. Zato so ga poslali v porušeno in obubožano Belo krajino.

Najprej se je lotil prenove do takrat skromno opremljene lekarne, ki je zaradi zasilnih prostorov imela težave tudi z glodalci. 12. maja 1952 je bil med dvanajstimi ustanovnimi člani DP SFD. S poznejšim direktorjem Krke Borisom Andrijaničem je bil vedno v dobrih odnosih. Z vsem srcem se je posvetil lekarni in njenim pacientom. V takrat pretežno ruralnem okolju, kjer so prihajali ljudje v lekarno tudi s perutnino na glavi ali v rokah, je bilo to težko, a mu je uspelo. Ljudje so spoštljivo prihajali v lekarno in cenili dragocene nasvete lekarniških strokovnjakov. Kraj in Slovenija sta se razvijala in stara, čeprav prenovljena lekarna, je postala premajhna. Ker je imel vizijo in realne cilje, se je s pomočjo občinske in republiške oblasti lotil gradnje nove lekarne. Leta 1964 so pod njegovim vodstvom uspeli zgraditi novo lekarno. V središču mesta je za tedanje čase zrasla lepa in funkcionalna stavba. Na otvoritvi lekarne se je zbralo veliko slovenskih farmacevtov, ki se niso mogli načuditi tako lepi in prostorni lekarni. Takrat je to bila ena najlepših in največjih slovenskih lekarn. Na to lekarno je bil vse življenje upravičeno zelo ponosen. Ker v tistih časih ni bilo lahko dobiti strokovnega kadra v Črnomelj, je bil v skladu s svojo naravo stalno in resno na svojem delovnem mestu in si veliko drugih funkcij niti ni mogel privoščiti. »Jaz sem bil samo apoteker«, je bil njegov rek še v pokoju. V tistih časih so morali tudi v manjših krajih veliko dežurati, saj ljudje niso bili mobilni tako kot v današnjih časih. Zelo dobro je sodeloval z občinskimi in republiškimi organi, ki jim je bil spoštovan in cenjen sogovornik in partner. Vzpostavil je zelo dobre odnose z zdravniki v Črnomlju in Dolenjski regiji. Tudi belokranjski študentje farmacije, ki smo opravljali enomesečno obvezno prakso pod njegovim mentorstvom, smo ga ohranili v lepem spominu. Lekarno nam je prikazal v drugačni luči, kot smo si jo predstavljali nadebudni študentje farmacije.

Kljub svoji resnosti, je imel smisel za humor. Ko smo na sindikalnem izletu sredi osemdestih let na Madžarskem bili razočarani nad slabo večerjo, naše direktorice Dolenjskih lekarn dolgo ni bilo na avtobus, zato smo vsi spraševali, kje je. On pa je resno odgovoril, da je šla sigurno iskat recept za palačinke, ki smo jih dobili pri večerji.

Odšel je magister, ki se je znal zavzeti za lekarniški poklic in umestiti lekarno na ustrezno mesto v javnem življenju. Ljudje so ga cenili in spoštovali, bil je cenjen gospod magister tudi v pokoju. Čeprav so se časi zelo spremenili, bo vedno ostal svetal zgled prodornega in uspešnega lekarnarja.

11. simpozij Sekcije farmacevtov javnih lekarn

Zdravljenje revmatičnih bolezni

Ljubljana, 19. september 2013

PROGRAM

8.45 – 9.00
Uvodne besede
mag. Miroslava Abazović, mag. farm., spec.,
doc.dr. Tomaž Vovk, mag. farm.

9.00 - 9.25
Vnetne revmatične bolezni
prof. dr. Matija Tomšič, dr. med.,
Univerzitetni klinični center Ljubljana,
Klinični oddelek za revmatologijo

9.25 - 9.50
Zdravila za zdravljenje revmatičnih bolezni
mag. Miroslava Abazović, mag. farm., spec.,
Dolenjske lekarne

9.50 - 10.15
Interakcije zdravil za zdravljenje revmatičnih bolezni
doc. dr. Robert Roškar, mag. farm.
Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo

10.15 – 11.00
Klinični primeri
Tomi Laptoš, mag. farm.
Univerzitetni klinični center Ljubljana, Lekarna
Darja Ogulin, mag. farm., mag. ekon. in posl. ved,
Dolenjske lekarne
Tjaša Abram, mag. farm., spec.,
Zasavske lekarne

11.00 – 11.30
Odmor

11.30 - 11.55
Podobna biološka zdravila –
vidik stroke, uporabnika in plačnika
Tomi Laptoš, mag. farm.,
Univerzitetni klinični center Ljubljana, Lekarna

11.55 – 12.20
Uporaba bioloških zdravil v praksi
Žiga Rotar, dr. med.,
Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinični oddelek
za revmatologijo

12.20 – 12.45
Problematika pri izdaji zdravil na obnovljive recepte
Ana Banovič, mag. farm.,
Goriška lekarna
mag. Nina Pisk, mag. farm.,
Gorenjske lekarne

12.45 – 13.15
Prvo desetletje delovanja
Sekcije farmacevtov javnih lekarn

13.15 – 14.15
Kosilo

14.15 - 14.40
Zdravljenje revmatičnih bolezni pri otrocih
in mladostnikih
Brigita Koren, dr. med.,
Univerzitetni klinični center Maribor

14.40. – 15.05
Zavzetost za zdravljenje z zdravili -
zakaj je tako nizka in kaj lahko storimo?
mag. Rok Antolič, mag. farm.,
Univerzitetni klinični center Ljubljana, Lekarna

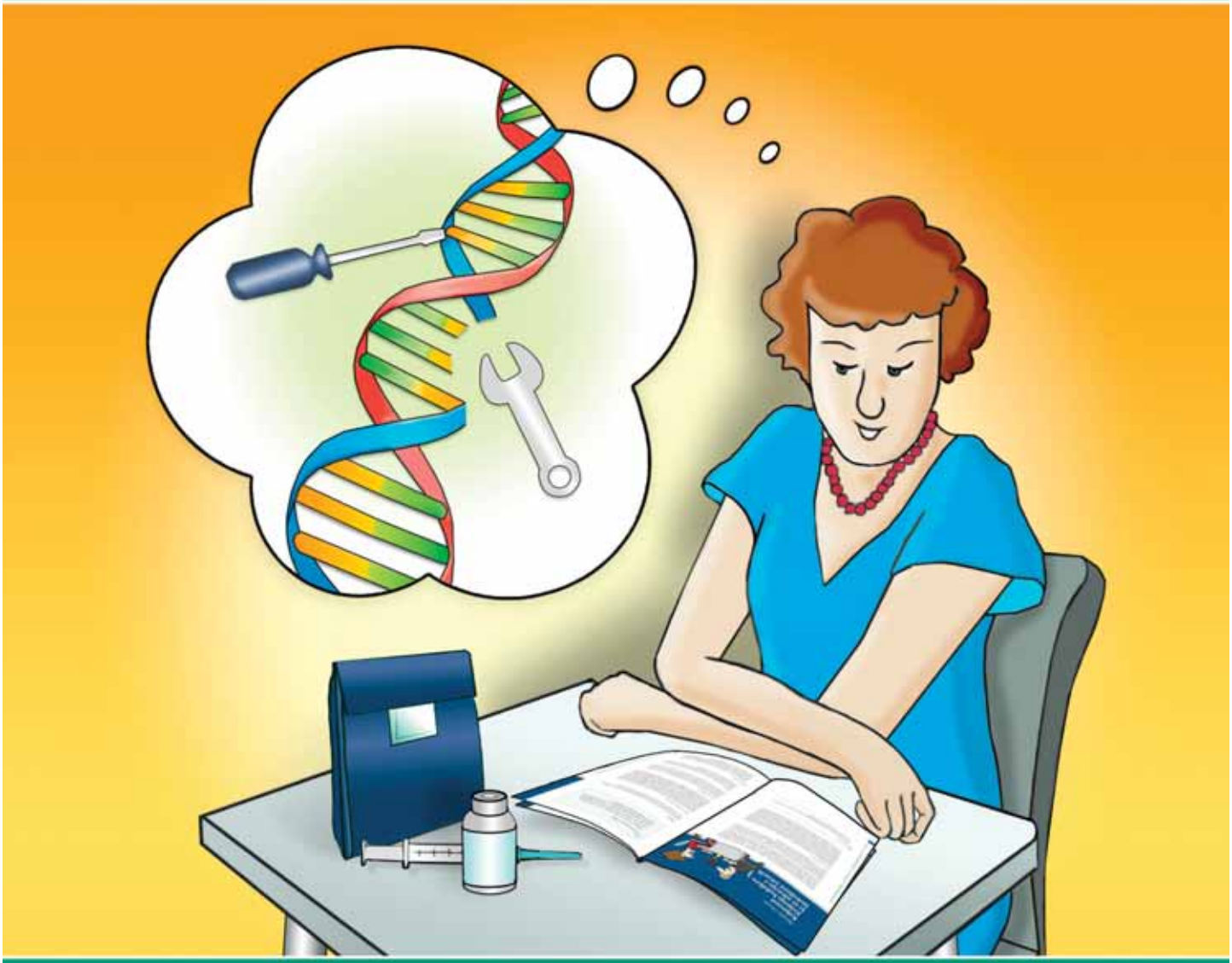
15.05 – 15.30
Fizioterapija pri revmatikih
Helena Vinšek, dipl. fiziot.,
Terme Krka, Zdravilišče Dolenjske Toplice

15.30 – 16.15
Klinični primeri

16.15 – 16.30
Razprava in zaključek srečanja

9. Dan slovenskih lekarn - 26. september 2013

O PRAVILNI IN VARNI UPORABI ZDRAVIL



SLOVENSKO FARMACEVTSKO DRUŠTVO

SEKCIJA FARMACEVTOV JAVNIH LEKARN

Biološka zdravila

Zdravilo je učinkovito in varno le, če ga pravilno uporabite.
Posvetujte se s svojim farmacevtom v lekarni,
če želite storiti več za svoje zdravje.

LEKARNIŠKA ZBORNICA SLOVENIJE