

Letnik 8,
leto 2021,
št. 15

Pomurska Obzorja

Izdajatelj Pomurska akademsko znanstvena unija

Alenka Erjavec Škerget: KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen – Alenka Erjavec Škerget: GENETIKA NAGLUŠNOSTI: vzpostavitev diagnostične laboratorijske genetske poti – Cvetka Grašič Kuhar: POVEZANOST NASTANKA RAKA Z OKUŽBAMI – S POUDARKOM NA HPV VIRUSIH – Matej Štuhec: AMBULANTE FARMACEVTA SVETOVALCA NA PRIMARNEM NIVOJU ZDRAVSTVENEGA VARSTVA V POMURJU – Simon Ülen, Ines Gabor, Veronika Poštrak, Rok Vogrinčič: DOLOČANJE LASTNOSTI ZVEZD S SPEKTROSKOPIJO – Alenka Erjavec Škerget: KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen – Alenka Erjavec Škerget: GENETIKA NAGLUŠNOSTI: vzpostavitev diagnostične laboratorijske genetske poti – Cvetka Grašič Kuhar: POVEZANOST NASTANKA RAKA Z OKUŽBAMI – S POUDARKOM NA HPV VIRUSIH – Matej Štuhec: AMBULANTE FARMACEVTA SVETOVALCA NA PRIMARNEM NIVOJU ZDRAVSTVENEGA VARSTVA V POMURJU – Simon Ülen, Ines Gabor, Veronika Poštrak, Rok Vogrinčič: DOLOČANJE LASTNOSTI ZVEZD S SPEKTROSKOPIJO – Alenka Erjavec Škerget: KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen – Alenka Erjavec Škerget: GENETIKA NAGLUŠNOSTI: vzpostavitev diagnostične laboratorijske genetske poti – Cvetka Grašič Kuhar: POVEZANOST NASTANKA RAKA Z OKUŽBAMI – S POUDARKOM NA HPV VIRUSIH – Matej Štuhec: AMBULANTE FARMACEVTA SVETOVALCA NA PRIMARNEM NIVOJU ZDRAVSTVENEGA VARSTVA V POMURJU – Simon Ülen, Ines Gabor, Veronika Poštrak, Rok Vogrinčič: DOLOČANJE LASTNOSTI ZVEZD S SPEKTROSKOPIJO – Alenka Erjavec Škerget: KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen – Alenka Erjavec Škerget: GENETIKA NAGLUŠNOSTI: vzpostavitev diagnostične laboratorijske genetske poti – Cvetka Grašič Kuhar: POVEZANOST NASTANKA RAKA Z OKUŽBAMI – S POUDARKOM NA HPV VIRUSIH – Matej Štuhec: AMBULANTE FARMACEVTA SVETOVALCA NA PRIMARNEM NIVOJU ZDRAVSTVENEGA VARSTVA V POMURJU – Simon Ülen, Ines Gabor, Veronika Poštrak, Rok Vogrinčič: DOLOČANJE LASTNOSTI ZVEZD S SPEKTROSKOPIJO – Alenka Erjavec Škerget: KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen – Alenka Erjavec Škerget: GENETIKA NAGLUŠNOSTI: vzpostavitev diagnostične laboratorijske genetske poti – Cvetka Grašič Kuhar: POVEZANOST NASTANKA RAKA Z OKUŽBAMI – S POUDARKOM NA HPV VIRUSIH – Matej Štuhec: AMBULANTE FARMACEVTA SVETOVALCA NA PRIMARNEM NIVOJU ZDRAVSTVENEGA VARSTVA V POMURJU – Simon Ülen, Ines Gabor, Veronika Poštrak, Rok Vogrinčič: DOLOČANJE LASTNOSTI ZVEZD S SPEKTROSKOPIJO – Alenka Erjavec Škerget: KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen – Alenka Erjavec Škerget: GENETIKA NAGLUŠNOSTI: vzpostavitev diagnostične laboratorijske genetske poti – Cvetka Grašič Kuhar: POVEZANOST NASTANKA RAKA Z OKUŽBAMI – S POUDARKOM NA HPV VIRUSIH – Matej Štuhec: AMBULANTE FARMACEVTA SVETOVALCA NA PRIMARNEM NIVOJU ZDRAVSTVENEGA VARSTVA V POMURJU – Simon Ülen, Ines Gabor, Veronika Poštrak, Rok Vogrinčič: DOLOČANJE LASTNOSTI ZVEZD S SPEKTROSKOPIJO

Pomurska obzorja

Letnik 8, leto 2021, številka 15 | ISSN 2350-6113



Murska Sobota, 2021

IMPRESUM	3
UVODNIK	3

MEDICINA

■ KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen	4
<i>Alenka Erjavec Škerget</i>	
■ GENETIKA NAGLUŠNOSTI: vzpostavitev diagnostične laboratorijske genetske poti	11
<i>Alenka Erjavec Škerget</i>	
■ POVEZANOST NASTANKA RAKA Z OKUŽBAMI – S Poudarkom na HPV virusih	15
<i>Cvetka Grašič Kuhar</i>	

FARMACIJA

■ AMBULANTE FARMACEVTA SVETOVALCA NA PRIMARNEM NIVOJU ZDRAVSTVENEGA VARSTVA V POMURJU	19
<i>Matej Štuhec</i>	

FIZIKA

■ DOLOČANJE LASTNOSTI ZVEZD S SPEKTROSKOPIJO	25
<i>Simon Ülen, Ines Gabor, Veronika Poštrak, Rok Vogrinčič</i>	

Impresum

Internet:
<http://www.pazu.si>

e-mail:
pazu@pazu.si

ISSN 2350-6113

Naslov publikacije:
POMURSKA OBZORJA

Letnik	Leto	Številka
8	2021	15

Izdajatelj:
Združenje Pomurska akademsko
znanstvena unija

Uredništvo:
Odgovorni urednik
pom. akad. dr. Mitja Slavinec

Glavni urednik
pom. akad. dr. Milan Svetec

Tehnični urednik
Sanja Strupar

Uredniški svet:
pom. akad. dr. Damir Josipovič
pom. akad. dr. Albina Nečak Lük
pom. akad. dr. Vesna Kondrič Horvat
pom. akad. dr. Darja Senčur-Peček
pom. akad. dr. Mitja Lainščak
pom. akad. dr. Mirjam Sepesy Maučec
pom. akad. dr. Rafael Mihalič
akad. pom. akad. dr. Igor Emri

Oblikovanje naslovnice:
prof. dr. Tilen Žbona

Fotografija na naslovnici: Megla

Foto: Razvojni center Murska Sobota

Tisk:
Tiskarna aiP Praprotnik d.o.o.
Tavčarjeva ulica 14, Černelavci

Naslov izdajatelja in uredništva:
PAZU – Uredništvo revije Pomurska obzorja
Lendavska ulica 5a, 9000 Murska Sobota

Datum natisa:
Maj 2021

Naklada:
200 izvodov

Revija Pomurska obzorja izhaja dvakrat letno.
Revija je brezplačna.

Drugačna konferenca Pomurske akademije

Osmi letnik Pomurskih obzorij nam v petnajsti številki predstavlja pet zanimivih člankov, ki so bili predstavljeni tudi na letni konferenci Pomurske akademije. Zaradi znanih razlogov je konferenca potekala drugače, na daljavo, kar pa nikakor ni okrnilo njenega pomena. Manjkalo je neposredno druženje med udeleženci, ki je ena pomembnejših značilnosti in vrednot naših konferenc, prav nič pa zaradi tega nista trpela strokovnost in akademski nivo predavanj ter posledično raven prispevkov, ki jih nekaj predstavljamo tudi v pričujoči publikaciji.

V tej številki objavljamo kar tri članke s področja medicine ter po enega s področja tehnike in fizike. Članek pom. akad. dr. Alenke Erjavce Škerget je smiselno in tudi napovedano nadaljevanje njenega članka iz devete številke Pomurskih obzorij, kjer je predstavila kromosom X, tokrat pa se je posvetila kromosomu Y. Dotaknila se je njegove strukture, funkcije in medicinsko-diagnosticskega pomena. Tudi sicer je članek pomembna dopolnitev že omenjenega predhodnika, saj tokrat med drugim oba kromosoma med seboj tudi morfološko in fiziološko primerja. Prispevek je zelo aktualen, saj predstavlja tudi nedavna odkritja, povezana z dovzetnostjo moških za nekatere bolezni.

Tudi naslednji članek je prispevala pom. akad. dr. Alenka Erjavce Škerget, v njem pa opisuje vpliv genetike pri naglušnosti. Ugotavlja, da je naglušnost pri več kot polovici bolnikov genetsko pogojena, zato je terapija, povezana z gensko obravnavo, toliko bolj smiselna in tudi ekonomsko upravičena, svojo uspešnost pa dokazujejo tudi v evropskem prostoru.

Pom. akad. dr. Cvetka Grašič Kuhar v članku Povezanost nastanka raka z okužbami – s poudarkom na HPV virusih ob splošno znanih dejavnikih, ki predstavljajo tveganje za raka, predstavi še okužbe. Pri teh je kar polovica oblik raka povezana z visokorizičnimi podtipi virusov HPV, kar pa lahko učinkovito in varno preprečujemo s cepljenjem.

V članku Ambulante farmacevta svetovalca na primarnem nivoju zdravstvenega varstva v Pomurju pom. akad. dr. Matej Štuhec predstavi, kako se lahko klinične farmacevte vključi v proces zdravljenja bolnikov na vseh nivojih in katere pozitivne učinke to zagotavlja.

Zadnji članek v tej številki Pomurskih obzorij je povezan z astronomijo; v njem pom. akad. dr. Simon Ūlen s sodelavci predstavi določanje lastnosti zvezd s spektroskopijo. Ob strokovni vrednosti ima članek tudi velik motivacijski potencial, saj so pri raziskavi sodelovali tudi dijaki, kar je nedvomno pomemben doprinos pri popularizaciji znanosti med mladimi.

Aktualni in zanimivi članki naj bodo zanimivo branje in motivacija za aktivno sodelovanje s Pomursko akademijo in posredno tudi za krepitev raziskovalne dejavnosti tako v lokalnem okolju kakor tudi širše.

pom. akad. dr. Mitja Slavinec,

odgovorni urednik

Alenka Erjavec Škerget^{1,*}

KROMOSOM Y V ČLOVEŠKEM GENOMU: struktura, funkcija in medicinsko-diagnostični pomen

POVZETEK

Kromosom Y spada po velikosti med najmanjše človeške kromosome, a njegova vloga in pomen v humanem genomu nista povsem v korelaciji z njegovo velikostjo. Kot predstavnik enega od dveh spolnih kromosomov pri človeku v svojem „normalnem“ stanju poleg drugih genov vsebuje najbolj znani in po biološki definiciji spola za moški spol specifični gen, t. i. *SRY* gen. Kljub skupnemu izvoru obeh človeških spolnih kromosomov pred 180 milijoni let sta danes oba spolna kromosoma X in Y morfološko in fiziološko zelo različna: po velikosti je kromosom Y za 2/3 manjši od kromosoma X.

Poleg genov za določitev spola (*SRY*, *AMHY*, *PAR* regije), ki vplivajo na razvoj in diferenciacijo spolnih organov osebka in/ali na njegovo nadaljnjo reprodukcijo, so bile opažene še druge fenotipske značilnosti oz. bolezni, ki se povezujejo z geni na kromosomu Y: družinsko pogojena hipertenzija, ki se pojavlja pri moških predstavnikih, koronarna arterijska bolezen ter avtoimunske bolezni na nivoju vnetnega odziva. V Laboratoriju za medicinsko genetiko UKC Maribor opravljamo preiskovanje kromosoma Y na različnih nivojih vpogleda v njegovo strukturo, odvisno od napotne diagnoze preiskovanca. S klasično citogenetsko analizo preiskujemo kromosom na nivoju ločljivosti do 8 Mbp velikih sprememb; molekularno citogenetska analiza na osnovi FISH tehnike omogoča natančnejši, a vnaprej definiran in s tem lokaliziran vpogled v strukturo kromosoma. Molekularno-genetska analiza v okviru odkrivanja mikrolecij preko alelnih specifičnih markerjev ali z uporabo mikrosatelitnih označevalcev s kromosoma Y omogoča odkrivanje minimalnih strukturnih in/ali številčnih sprememb kromosoma Y.

Prispevek služi kot pregled sinteze nedavno odkritih strukturnih, eksperimentalnih in kliničnih vpogledov v človeški Y kromosom v kontekstu moške dovzetnosti za bolezni, predvsem s področja embriogeneze, spermatogeneze in vloge v reprodukciji.

Ključne besede: kromosom Y, humana genetika, spolni kromosomi, diagnostika kromosoma Y

UVOD

V obdobju celičnega cikla, imenovanem metafaza, je v jedru vsake somatske človeške celice genomna DNA kondenzirana v strukture, imenovane kromosomi. V

zdravi normalni človeški celici (z izjemo spolnih celic) je v normalnem stanju prisotnih 23 parov kromosomov. En par predstavljata spolna kromosoma (kromosoma X in Y), ki se razlikujeta med spoloma. Za ženski spol je značilna prisotnost dveh kromosomov X, za moški spol je značilna prisotnost enega X in enega Y kromosoma. Kot kromosom za določitev spola pri človeku je do leta

¹ Univerzitetni klinični center Maribor, Klinika za ginekologijo in perinatologijo, Laboratorij za medicinsko genetiko, Ljubljanska 5, 2000 Maribor
E-Mail: alenka.erjavec@guest.arnes.si
*Avtor za korespondenco

1890 veljal kromosom X, po letu 1905 pa je vlogo označevalca spola pri človeku prevzel kromosom Y.

Po trenutnih podatkih je velikost kromosoma Y 58 milijonov baznih parov, kar predstavlja cca 2 % celotnega genoma pri moškem osebk. Kromosom Y

vsebuje do danes znanih 63–73 genov (odvisno od genomskega označevanja in mapiranja), povezujejo pa ga z okoli 200 drugimi geni, ki sodelujejo pri izražanju skupaj z njim.

Tabela 1: Število odkritih genov na kromosomu Y, zbranih v različnih genetskih bazah podatkov (Vir:

https://en.wikipedia.org/wiki/Y_chromosome)

Estimated by	Protein-coding genes	Non-coding RNA genes	Pseudogenes	Release date
CCDS	63	-	-	2016-09-08
HGNC	45	55	381	2017-05-12
Ensembl	63	109	392	2017-03-29
UniProt	47	-	-	2018-02-28
NCBI	73	122	400	2017-05-19

Glede na vsebnost genov je kromosom Y najrevnejši človeški kromosom. Znale so tri skupine genov, ki jih vsebuje: geni, povezani s spolno diferenciacijo, geni, povezani z reprodukcijo, in skupina t. i. drugih genov, ki imajo vpliv na vnetni odziv pri imunsko pogojenih stanjih.

Glavni in najbolj znan gen za določitev spola je t. i. *SRY* gen (sex-determining region Y), ki najpogosteje, v normalnem stanju, leži na kromosomu Y in je tisti, ki vpliva na spolno determinacijo. Na določitev spola poleg njega vplivajo še drugi geni, ki ležijo ali na kromosomu X (*DAX1*, *FOXL2*) ali na drugih avtosomih; da je *SRY* odločujoči gen za določitev spola, potrjujejo znani primeri fenotipov, ko se pri prisotnem *SRY* genu, ne glede na njegovo lego, pri humanem osebk vedno izrazi moški fenotip (genitalije).

Vloga produkta *SRY* gena je namreč sodelovanje pri prepisovanju transkripcijskega faktorja TDF, ki sodeluje v kaskadi aktivacije drugih transkripcijskih faktorjev (*SOX3*, 9) v procesu diferenciacije spola. Po aktivaciji se sproži diferenciacija Sertolijevih in Leydigovih celic, da začnejo iz prekurzorov celic s pomočjo AMH (Antimüllerjevega hormona) izločati testosteron, zaradi česar se nato tvorijo moške spolne celice.

SRY je sestavljen brezintronski gen, ki vsebuje veliko t. i. HMG (high mobility group) proteinov, zato se lahko v

procesu translacije uspešno prestavlja na druge kromosome in je tam aktiven. Posledica uspešne prestavitve so primeri oseb s kariotipom XX, prisotno *SRY* regijo in moškim fenotipom.

Fenotipske značilnosti, povezane s kromosomom Y, imajo nekaj skupnih in splošno znanih dejstev. Sicer je, glede na velikost obeh spolnih kromosomov, na kromosom X vezanih več okvar in genetskih bolezni, ker je kromosom X večji in posledično vsebuje več genov. Posebnost pri vseh moških osebkih je še ta, da se vse okvare na kromosomih X in Y izrazijo na fenotipu moškega v primerjavi z ženskimi osebki, ki jim poseben proces inaktivacije enega kromosoma X omogoča dodatno zaščito.

Med najbolj znane bolezni, ki so direktno povezane s kromosomom Y, spadajo:

- mikrolecije kromosoma Y, ki se izražajo kot zmanjšana fertilitet in/ali reducirano število spermijev brez druge fenotipske simptomatike;
- Klinefelter sindrom: XXY, za katerega je značilna okvarjena postnatalna testikularna funkcija in kompletna neplodnost;
- Swyerjev sindrom, kjer gre za XY genotipske osebe s prisotnimi ženskimi spolnimi organi vendar brez funkcionalnih gonad; nastane kot

posledica mutacij v SRY genu, zaradi česar je ohromljen proces moške spolne diferenciacije;

- sindrom dvojnega Y, ki se pojavlja v 1/1000 rojenih fantkov, predstavlja značilen kariotip 47,XYX in se fenotipsko izraža kot odrasli moški osebek višje postave (do 15 cm); pri otrocih poročajo o zakasnelem motoričnem razvoju in kasnenju na področju govora in z več učnimi, vedenjskimi in čustvenimi težavami (agresija);
- De LaChapelleov sindrom: predstavlja kariotip XX s prisotno SRY regijo; gre za fenotipsko moškega s prisotnimi manjšimi testisi, sterilni osebek, opisani primeri pa se povezujejo z nižjim IQ in manjšo telesno velikostjo v primerjavi z XY moškimi osebki.

Poleg vloge pri spolni diferenciaciji so do sedaj opisane tudi nekatere druge fenotipske lastnosti, povezane s kromosomom Y in vključujejo tri področja. Na živalskih modelih je bil opažen in doslej dobro dokumentiran pojav **hipertenzije** v povezavi z okvarjenim genom SRY; produkt SRY gena namreč vpliva na izražanje specifičnih encimov ACE in ACE2, ki imajo ključno vlogo pri regulaciji krvnega pritiska. Genetske asociacijske študije pri človeku, ki so bile do sedaj opravljene na tem področju, sicer zaenkrat še ne nudijo dovolj zanesljivega vpogleda in dokaza na področju človeških modelov. **Koronarna arterijska bolezen** (CAD) ter **bolezni imunskega sistema** sta ostali dve področji, kjer potekajo intenzivne raziskave, a zaenkrat še vse na živalskih modelih.

Uporabnost kromosoma Y v humani genetiki je posebnega pomena še pri določevanju sorodnosti, še posebej očetovstva pri moških potomcih. V primeru dedovanja kromosoma Y, za katerega je značilen patriarhalni prenos, gre namreč za t. i. sledenje po patrilinearni liniji. To pomeni, da je vsak Y podedovan od očeta in se zato mora ujemati med sorodnikoma (v primerjavi z dedovanjem po materini strani, kjer se pregleduje mitohondrijski genom v okviru t. i. sledenja po matriarhalni liniji).

Zgodovina in prihodnost kromosoma Y

Pred 300 milijoni let je kromosom Y vseboval 1438 genov. Glede na število prisotnih genov na njem danes (63–73) so izračunali, da je s frekvenco izgube 4.6 gena/milijon let kromosom Y najhitreje izginjajoči kromosom v človeškem genomu, kar je posledica visoke mutacijske stopnje, neučinkovite selekcije in genetskega zdrsa. Potekajo tudi raziskave glede preverjanja dejstva, da naj bi bil kromosom Y vseh živečih moških povezan z enim prednikom, ki je živel pred 100 000 leti, a zanesljivost pridobljenih rezultatov še ni zagotovljena.

Prihodnost kromosoma Y glede na druge živalske vrste v evoluciji nakazuje, da bo tudi človeški kromosom Y dosegel terminalno stopnjo degeneracije, kar se je že zgodilo pri nekaterih družinah v vrstah glodalcev (*Murridae*, *Cricetidae*). Kromosom Y je namreč kot samostojna komponenta izginil iz njihovega genoma, njegovi najpomembnejši geni pa so se prerazporedili na ostale kromosome. Kot zanimivost, danes se to nakazuje pri ljudeh: moški kadilci imajo večje število krvnih celic brez kromosoma Y v primerjavi z nekadilci. V kakšni povezavi je to odkrito dejstvo in kaj prinaša v prihodnosti, se bo šele izkazalo.

Posebna pozornost pa je namenjena tudi leta 2003 opisanemu procesu t. i. lastne genske konverzije na kromosomu Y, kjer je omogočena rekombinacija kromosoma Y s samim seboj preko palindromskih sekvenc. Preko opisanega odkritega mehanizma bi lahko vplivali na možnost upočasnitve degradacije, če se bo to odkrilo kot zaščitna varianta in tako eden od načinov geneske terapije.

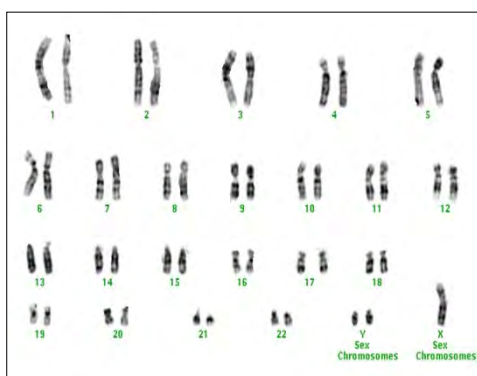
MATERIALI IN METODOLOGIJA DELA

V Laboratoriju za medicinsko genetiko UKC Maribor opravljamo preiskovanje kromosoma Y na različnih nivojih vpogleda v njegovo strukturo; kot napotek za izvedbo preiskave v glavnem služi napotna diagnoza preiskovanca. S klasično citogenetsko analizo preiskujemo kromosom na nivoju ločljivosti do 8 Mbp velikih sprememb; molekularno-citogenetska analiza na osnovi FISH tehnike omogoča natančnejši, a vnaprej definiran in lokaliziran vpogled v strukturo kromosoma.

Molekularno-genetska analiza v okviru odkrivanja mikrolecij preko alelna specifičnih markerjev ali z uporabo mikrosatelitnih označevalcev s kromosoma Y omogoča odkrivanje minimalnih strukturnih in/ali številčnih sprememb kromosoma Y.

REZULTATI

Kariotipizacija kot rezultat klasične citogenetske analize (slika 1) je rezultat dela pri preiskovancih z napotno diagnozo glede diferenciacije spola ali pri preiskovancih, ki imajo težave v procesu reprodukcije.

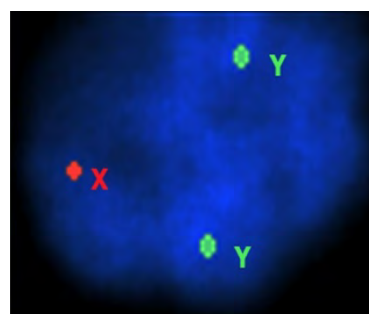
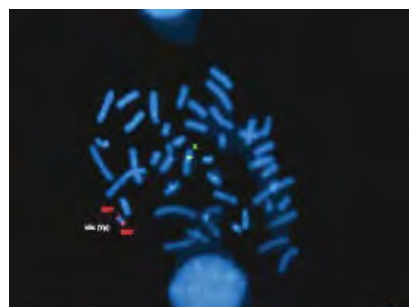


Slika 1: Rezultat citogenetske analize pri preiskovancu; kariogram 47,XYY

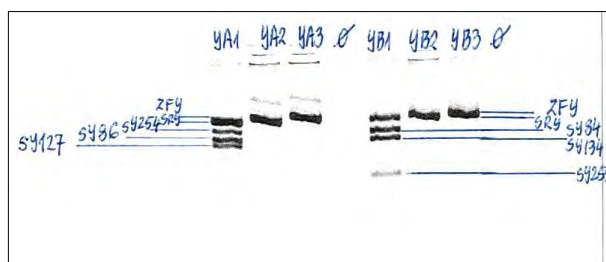
V primeru citogenetsko ugotovljene spremembe na kromosomu Y se uporabi natančnejša, a ciljno usmerjena hibridizacijska tehnika z uporabo specifičnih sond kot markerjev. Fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) kot najpogostejša molekularno-citogenetska tehnika omogoča potrjevanje ali odkrivanje večjih ali manjših sprememb na ciljnem kromosomu Y, odvisno od velikosti uporabljene sonde (slika 2).

Molekularno-genetsko analizo opravljamo za namene odkrivanja manjših mikrolecij, ki so lahko vzrok reprodukcijskim težavam moških osebkov. Z analizo določamo delecije na dolgem kraku kromosoma Y, v območjih AZFa, AZFb, AZFc in AZFd pri diagnostiki moške neplodnosti. Pri tempreverjamo prisotnost/odsotnost alelna specifičnih označevalcev: SRY, sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255 (slika 3).

Analiza na osnovi mikrosatelitnih označevalcev s kromosoma Y omogoča odkrivanje minimalnih strukturnih, a z izborom označevalca ciljno usmerjenih strukturnih sprememb na kromosomu Y. Hkrati pa je z omenjeno metodo mogoče odkrivanje številčnih sprememb kromosoma Y.

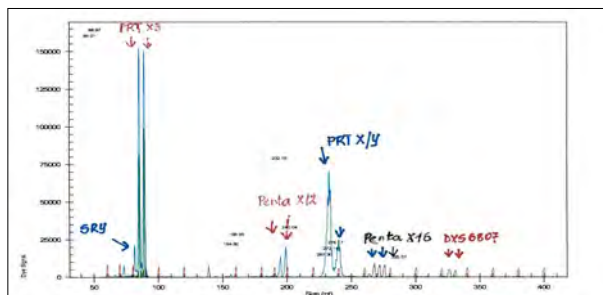


Slika 2: Rezultat analize s FISH pri preiskovancu; kariogram 47,XYY A: metafazni kromosomi; B: interfazno jedro



Slika 3: Rezultat agarozne gelske elektroforeze molekularno-genetske analize za detekcijo mikrolecijskih sprememb na kromosomu Y pri preiskovancih 1 (kontrolni preiskovanec), 2 (kontrolna preiskovanka), 3 (testni vzorec)

Temelji na QFPCR tehnologiji (kvantitativna fluorescenčna verižna reakcija s polimerazo), s katero zaznavamo prisotnost ali številčnost izbranih označevalcev AMEL, sY14, sY70; SRY ter PRT XY.



Slika 4: Elektroforetogram kot rezultat kapilarne elektroforeze po analizi mikrosatelitnih in PRT markerjev na kromosomu Y pri preiskovancu 47,XXY

RAZPRAVA Z ZAKLJUČKOM

Kromosom Y je v normalni moški človeški celici prisoten v eni kopiji in je dedovan vedno od očeta na moške potomce. To pomeni, da geni na kromosomu Y ne morejo biti podvrženi genski rekombinaciji oz. t. i. mešanju genov, ki poteka v vsaki generaciji omogoča morebitno odpravljanje škodljivih genskih mutacij. Zaradi neobstoja prednosti rekombinacije tako Y kromosomski geni sčasoma degenerirajo in se postopoma izgublajo iz genoma. Novejše raziskave sicer nakazujejo, da je kromosom Y razvil nekaj mehanizmov za "zaviranje" degeneracije, s čimer se je stopnja izgube genov upočasnila.

V človeškem genomu kromosom Y predstavlja t. i. „gensko puščavo“, ki naj bi postopoma izginevala iz človeškega genoma. Danes dokazano prepoznana vloga kromosoma Y pri človeku je omejena na določanje spola v zgodnjem embrionalnem razvoju ter na proces spermatogeneze v poznejšem obdobju moškega osebk. V novjšem času tovrstno omejitev vpogledov izpodbija identifikacija t. i. multiplih, povsod prisotnih in izraženih Y-kromosomskih genov ter odkrivanje do sedaj neznanih in nepričakovanih povezav med kromosomom Y, imunskimi lastnostmi ter drugimi kompleksnimi poligenskimi komponentami. Dosedanje študije namreč dokazujejo, da komponente iz kromosoma Y preko genetsko pogojene dovzetnosti za določeno bolezen vplivajo na imunske in vnetne odzive pri moških, obolenih na imunskem sistemu ali pri srčno-žilnih obolenjih. Filogenetske študije namreč dokazujejo, da imajo nosilci skupne evropske linije kromosoma Y

(haplogrupa I) povečano tveganje za nastanek koronarne arterijske bolezni. Vzrok tovrstnega dogajanja je namreč povečana regulacija vnetnih procesov ter inhibicija t. i. prilagoditvene imunitete v omenjenem haplotipu skupine Y, kar je posledica slabše odzivnosti na okužbe z virusi imunske pomanjkljivosti. Gre za t. i. *UTY* gene (Ubiquitously Transcribed Tetratricopeptide Repeat Containing, Y-Linked), ki se kažejo kot povezovalna struktura med kromosomom Y in občutljivostjo na bolezni. Kot kažejo novejšje objave, se bodo prihodnje raziskave usmerjale na določanje specifičnih genov, ki neposredno vplivajo na vnetne in prilagoditvene imunske procese v aterosklerozi. Do sedaj je že bilo identificiranih 12 genskih parov, ki so kandidati geni za prihodnje študije in so v povezavi z haplogrupo I ter imunskimi procesi (*UTY* / *UTX*, *PRKY* / *PRKX* in *KDM5D* / *KDM5C*).

Podatki iz povezovalnih študij so pokazali, da imajo lahko pri določanju moškega zdravja in dovzetnosti za bolezni pomembno vlogo genske spremembe na kromosomu Y. To je v nasprotju s prvotnimi pesimističnimi pogledi na kromosom Y kot nesmiselni in odvečni del DNK. Eden najmočnejših dokazov je povezava med haplogrupo I in povečanim CAD tveganjem pri vnetnih in imunskih procesih. V danski študiji, opravljeni na 62 različnih moških osebkih, je bilo ugotovljeno, da se tudi na kromosomu Y dogajajo obsežne strukturne preureditve, ki omogočajo t. i. "ojačanje gena" (PLoS, 2017). To pomeni pridobitev več kopij genov, ki spodbujajo normalno spermatogenezo in s tem ublažitev izgube genov. Na kromosomu Y so odkrili posebne palindromske strukture kot varovalo pred nadaljnjo degradacijo kromosoma. Na teh strukturah je bila opažena visoka stopnja pretvorbe genov, ki v procesu kopiranja in lepljenja omogoča popraviljanje poškodovanih genov z uporabo nepoškodovane varnostne kopije, zapisane v palindromski obliki.

Pri drugih živalskih vrstah, ki so nosilci kromosoma Y (Y-kromosomi obstajajo pri sesalcih in samo nekaterih drugih vrstah), je t. i. ojačanje kromosoma Y že znano in dokazano prisotno. Pri njih imajo ojačani geni ključno vlogo pri proizvodnji sperme in (vsaj pri glodalcih) uravnavanju razmerja med spoloma. Na živalskih modelih je bilo dokumentirano, da je to povečanje števila

genskih kopij pri miših posledica naravne selekcije.

Odgovor na vprašanje o tem, ali bo kromosom Y dejansko izginil, je v znanstvenih krogih še vedno deljen. Zagovorniki kromosoma Y iščejo dokaze o obstoju obrambnih mehanizmov in razlagi njegove vloge, medtem ko evolucionisti dolgoročno predvidevajo izginotje kromosoma Y. Svoje domneve potrjujejo tudi z dokazi na japonski podvrsti podgan, ki so v celoti izgubile kromosom Y; opaža se, da spremembe na kromosomu Y povzročajo težave s plodnostjo, popolno izginotje kromosoma Y pa je potem lahko osnova za nastanek povsem novih vrst. Namreč, tudi če kromosom Y v človeškem genomu izgine, to ne pomeni nujno, da človeška vrsta moških ne bo več potrebovala. Pri živalskih vrstah, ki so v celoti izgubile svoje kromosome Y, sta oba spola med osebki še vedno potrebna za proces razmnoževanja.

Prisotnost gena SRY je kot glavno stikalo za razvoj moškega osebka potrebna, tudi če je le-ta prisoten na drugem kromosomu, kar pomeni, da fenotipsko moški osebki preživijo brez kromosoma Y, a so sterilni. Kar pa je zanimivo pri ljudeh, je, da je kromosom Y potreben za normalno reprodukcijo človeka, a mnogi geni, ki jih nosi, niso potrebni v primerih umetne oploditve. To bi lahko pomenilo, da bi lahko genski inženiring nadomestil gensko funkcijo kromosoma Y. Čeprav je to zanimivo in aktualno razpravljalno področje genetskih raziskav, so skrbi glede popolnega izginotja kromosoma Y pri človeku zaenkrat še neutemeljene. V vsakem primeru bo v naslednjih 4,6 milijona let veliko več dogajanj. Razprave o tem tako z biološkega, medicinskega, filozofskega in etičnega vidika pa so vsekakor utemeljene in pričakovane. Z upanjem, da sistem, kot ga poznamo pri "kmetijskih živali", kjer je nekaj "srečnih" moških osebkov izbranih očetov večine potomcev, ni na obzoru. V vsakem primeru se bo po naslednjih 4,6 milijona let razvoja človeka izkazalo, kako se bo proces razpletel.

Medicinska diagnostika in preučevanja kromosoma Y danes je osnovano na osnovnih citogenetskih, molekularno-citogenetskih in molekularno-genetskih metodah, v posebnih primerih pa je upravičeno omogočeno že tudi preiskovanje genov s kromosoma Y z metodami sekvenciranja nove generacije, ki omogočajo

odkrivanje genskih sprememb na nivoju enega nukleotida.

ZAHVALA

Avtorica prispevka se zahvaljuje celotnemu kolektivu Laboratorija za medicinsko genetiko UKC Maribor, ki je kakorkoli pripomogel k uspešnemu delu, katerega rezultat je objava pričujočega prispevka.

REFERENCE

https://en.wikipedia.org/wiki/Y_chromosome (prevzeto na dan 10.10.2018)

Quintana-Murci L., Fellous M. The human Y chromosome: the biological role of a "functional wasteland" J Biomed Biotechnol. 2001; 1(1): 18–24.

<https://www.genome.gov/27561885/facts-about-the-y-chromosome/> (prevzeto na dan 15.10.2018)

Maan AA, Eales J, Akbarov A, Rowland J, Xu X, et al. The Y chromosome: a blueprint for men's health? Eur J Hum Genet. 2017 Nov; 25 (11): 1181-1188.

Dumanski JP, Rasi C, Lönn M, Davies H, Ingelsson M, Giedraitis V, et al. Mutagenesis: Smoking is associated with mosaic loss of **chromosome Y**. Science. 2015 Jan 2;347(6217):81-3.

Griffin, D., Ellis P. The Y chromosome is disappearing – so what will happen to men? The Conversation, Academic rigour, journalistic flair. January 17, 2018.

Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. Reprod Biol Endocrinol. 2018 Feb 17;16(1):14. doi: 10.1186/s12958-018-0330-5. Review

Lauritskov, The Danish Pan Genome Consortium, MH Schierup. Analysis of 62 hybrid assembled human Y chromosomes exposes rapid structural changes and high rates of gene conversion. PLoS Genet. 2017 Aug; 13(8): e1006834. Published online 2017 Aug 28. doi: 10.1371/journal.pgen.1006834

Graves JA, Todd EV, Ortega-Recalde OL, et al. Stress, novel sex genes, and epigenetic reprogramming orchestrate socially controlled sex change. *Science advances*. 5:eaaw7006-eaaw7006. 2019

Alenka Erjavec Škerget^{1,*}

GENETIKA NAGLUŠNOSTI: vzpostavitev diagnostične laboratorijske genetske poti

POVZETEK

Na podlagi projektnega dela smo v rutinsko delo Laboratorija za medicinsko genetiko UKC Maribor uspešno vpeljali diagnostično laboratorijsko pot pri obravnavi preiskovanca z naglušnostjo, ki je v skladu z evropskimi smernicami. Opravljene storitve se sedaj opravljajo v prostorih UKC Maribor in so ustrezno verificirane, validirane ter ekonomsko upravičene.

V okviru vpeljave in verifikacije opisane laboratorijske poti je bila testirana tudi skupina preiskovancev z diagnozo idiopatska simetrična senzorinevralna naglušnost ali gluhost.

Kot rezultat našega dela predlagamo postopno obravnavo preiskovanca: prvotno obdelavo vzorca z asPCR (alelno specifično verižno reakcijo s polimerazo), ki je najhitrejša in najcenejša metoda. Sledi obdelava vzorca z najbolj učinkovito, hitro in ekonomsko sprejemljivo metodo MLPA (hkratna hibridizacija od ligacije odvisnih sond). V zadnji stopnji testiranja predlagamo še Sanger sekvenciranje in šele nato sekvenciranje nove generacije, ki sledi po predhodnem pregledu pri kliničnem genetiku. Izdelana diagnostična laboratorijska pot je v skladu z evropskimi smernicami in potrjena s strani evropske genetske mreže za humano genetiko.

Ključne besede: naglušnost, gluhost, genetika, smernice diagnostike naglušnosti, 35delG mutacija

UVOD

Ocenjujejo, da so genetski vzroki okvare sluha prisotni pri 60% preiskovancev z naglušnostjo. Odkritje genetskega vzroka lahko pripomore pri nadaljnji diagnostiki pacienta in njegovih družinskih članov ter s tem povezano nadaljnjo specialistično obravnavo preiskovanca in njegove družine.

Opisanih in dobro poznanih je že več kot 200 znanih genov oz. variacij v genih, ki so dokazano v povezavi z okvaro sluha. Med najpogostejše mutacije sodijo tiste, ki se nahajajo v genih GJB2 in GJB6. V diagnostični rutinski postopek Laboratorija za medicinsko genetiko UKC Maribor smo želeli vpeljati diagnostično pot pri laboratorijskem delu za namene odkrivanja genetskih vzrokov naglušnosti.

Laboratorijska pot naj bi bila taka, da bi zagotavljala optimalno senzitivnost, specifičnost ter ekonomsko upravičenost pri obravnavi pacientov z naglušnostjo.

Namen internega projektnega dela, ki je v te namene potekal v letih med 2017 in 2019, je bil vzpostavitev laboratorijskega protokola pri diagnostiki preiskovancev z diagnozo naglušnosti.

Želeli smo oceniti in ovrednotiti uporabo naslednjih metod v diagnostični laboratorij:

- alelno specifični PCR (as PCR) za odkrivanje najpogostejše mutacije: delecije 35delG v genu GJB2,
- hkratna hibridizacija z ligacijo in verižno reakcijo s polimerazo (MLPA) z naborom genetskih sond, ki so v povezavi z naglušnostjo (MLPA nabor sond P163, MRC Holland),
- genetska identifikacija določenih izbranih, ciljanih genskih sprememb na osnovi RFLP

¹Univerzitetni klinični center Maribor, Klinika za ginekologijo in perinatologijo, Laboratorij za medicinsko genetiko, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

*E-Mail: alenka.erjavec@guest.arnes.si

(restriction fragment length polymorphism) tehnologije (z restrikcijskimi encimi),

- sekvenciranje po Sangerju v genu *GJB2* za odkrivanje sekvenčne genetske spremembe v eksonu,
- sekvenciranje nove generacije (NGS) z naborom genov v povezavi z gluhostjo.

METODOLOGIJA Z REZULTATI DELA

Vpeljava in validacija novih tehnologij

Uspešno smo vpeljali tehniko na osnovi verižne reakcije s polimerazo (t. i. PCR (polimerase chain reaction), ki smo jo uporabili za odkrivanje najpogostejše genetske mutacije pri naglušnosti, *35delG* mutacije.

Uporabljali smo specifično izbrane začetne oligonukleotide (tabela 1), s katerimi smo pod specifičnimi laboratorijskimi pogoji izvedli PCR reakcije.

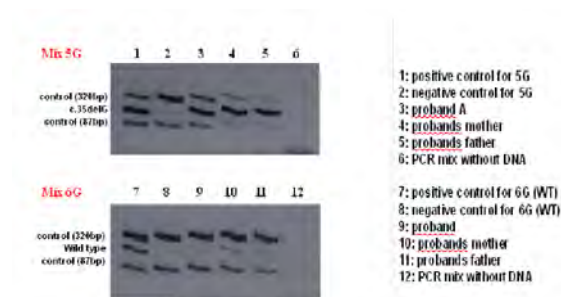
Tabela 1: Karakteristike uporabljenih začetnih oligonukleotidov za namen detekcije mutacije *35delG* v genu *GJB2*

Primer name	Primer sequence, 5'-3'	Size (bp)	Genomic position
5G: <i>GJB2</i> -5G-F/R	GAGTCTTTTCATCAGACGCTCA	202 bp	Chr 13:20167463-20192975 (GrCh38/hg38)
<i>GJB2</i> -6G-O-F	GCTTTCTTCATCAGACGCTCA		
6G: <i>GJB2</i> -6G-I-F3	GCAGACGCTTCCTGCGTGG	183bp	Band: 13q12.11 Genomic Size: 5513
<i>GJB2</i> -6G-O-R	TGGGAGATGGGGAAGTATGTA		

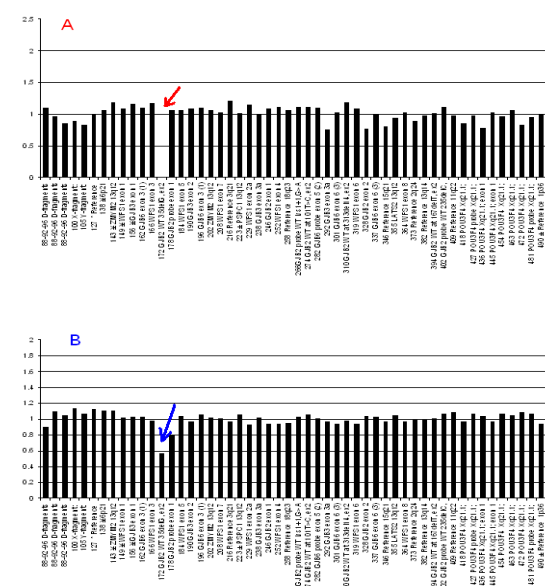
Na določeni skupini preiskovancev smo z namenom validacije metode opravili testiranje z as-PCR tehniko. Najdeno mutacijo smo potrdili s katero od drugih vpeljanih tehnologij. Specifičnost in senzitivnost vpeljane PCR tehnike za odkrivanje mutacije *35delG* v genu *GJB2* je po naših izkušnjah 100% (slika 1).

MLPA (multiplex ligation dependent probe amplification; hkratio pomnoževanje od ligacije odvisnih sond) je tehnologija, ki omogoča hkratio testiranje več genetskih mutacij oz. variacij, v primeru testiranja naglušnosti jih je to 51 (slika 2). Uporabili smo komplet sond proizvajalca MRC Holland z naborom P163. Testiranje smo opravili na določenem številu vzorcev in dosegli smo 100% specifičnost in

senzitivnost. Vse odkrite variacije smo potrdili z drugimi tehnikami, RFLP (restriction fragment length polymorphism) tehniko ali s Sanger sekvenciranjem.



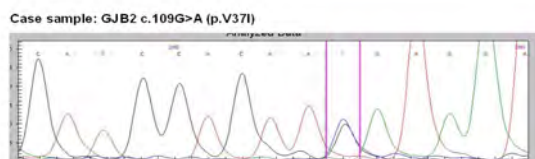
Slika 1: Rezultat po agarozni gelski elektroforezi in verižni reakciji s polimerazo (PCR) z uporabo začetnih oligonukleotidov, specifičnih za normalno variacijo (6G Mix) in mutacijsko variacijo (5G Mix) za detekcijo mutacije *35delG* v genu *GJB2*



Slika 2: Rezultat po MLPA tehnologiji (hkratio hibridizaciji od ligacije odvisnih sond) z uporabo MLPA Kit P163 (MRC Holland) za detekcijo mutacij v genih *GJB2* in *GJB6*; primer A: popolni primanjkljaj *35delG* regije; primer B: delni primanjkljaj *35delG* regije (50%): heterozigotno stanje

Sekvenciranje s Sangerjevo tehniko smo uporabljali za potrjevanje najdenih variacij s predhodnimi tehnikami. Metoda omogoča zaznavanje genetskih napak na nivoju velikosti enega nukleotida in na ta način tako še dodatno povečamo ločljivost v zaporedju genoma v območju gena

GJB2, eksona 2 (slika 3). Za namene validacije smo jo opravili na vzorcih, kjer smo ali predhodno vedeli rezultat ali je bilo z veliko verjetnostjo za pričakovati, da bomo odkrili genetsko spremembo. Potrdili smo vse predhodno najdene variante. Po uspešni identifikaciji in vpeljavi metode se sedaj Sanger tehnologija uporablja za preverjanje genoma v zadnji fazi laboratorijskega dela pri preiskovancih, pri katerih s predhodnimi tehnikami ne odkrijemo genetskega vzroka.



Slika 3: Rezultat metodologije sekvenciranja po Sangerju na primeru preiskovanca z najdeno spremembo v genu *GJB2* c.109G>A (p.V371)

RFLP tehnologijo smo uporabili kot potrditveno metodo pri dveh preiskovancih, ki sta bila prepoznana kot sestavljena heterozigota.

Za genetsko analiziranje z metodo **sekvenciranja nove generacije (NGS)** smo izbrali 10 preiskovancev z nesindromsko obliko naglušnosti z namenom, da pregledamo ostala genetska območja (tabela 2), kjer so do sedaj že dokazali povezavo z naglušnostjo. Zaradi ekonomičnosti smo tovrstno analizo opravili pri preiskovancih, pri katerih smo po kliničnih podatkih ocenili, da obstaja velika verjetnost za genetski vzrok naglušnosti, ki pa ga po dosednji metodologiji nismo odkrili.

Tabela 2: Nabor genov za testiranje genetsko pogojene naglušnosti z metodo NGS (Oto-GeneSGKit (Systemas Genomicos))

GJB3	WFS1	HGF	CDH23	GJB6	CLDN14	KCNE1	MITF
KCNQ4	GRXCR1	SLC26A5	USH1C	COCH	TMPSR33	OTOG	OTOGL
BSND	MARVELD2	SLC26A4	LRTOMT	ESRRB	MYH9	TSPEAR	PNPT1
GPBM2	ADGRV1	GRHL2	MYO7A	CRYM	TRIOBP	CABP2	STRC
USH2A	DIAPH1	TJP2	RDX	MYO15A	SMPX	CIB2	OTOA
OTOF	POU4F3	TMC1	TECTA	USH1G	POU3F4	KCNJ10	ESPN
DFNB59	SERPINB6	DFNB31	MYO1A	ACTG1	TIMM8A	FOX11	
TMIE	COL11A2	TPRN	MSRB3	LOXHD1	PRPS1	PDZD7	
ILDR1	LHFPL5	GATA3	PTPRQ	GIPC3	MIR96	DSPP	
CLRN1	MYO6	MYO3A	SLC17A8	CEACAM16	EYA4	DIABLO	
CCDC50	DFNA5	PCDH15	GJB2	MYH14	KCNQ1	CISD2	

RAZPRAVA Z ZAKLJUČKOM

Na podlagi projektnega dela smo v rutinsko delo Laboratorija za medicinsko genetiko UKC Maribor uspešno vpeljali diagnostično laboratorijsko pot pri obravnavi preiskovanca z naglušnostjo. Zaradi narave dela, ekonomske učinkovitosti in organizacijskega vidika v smislu učinkovite genetske diagnostike v laboratoriju smo se odločili za vpeljavo stopenjskega procesnega dela z različnimi tehnikami.

Predvideli in uporabili smo stopenjsko genetsko diagnostiko, kjer se lahko že z najenostavnejšo in najbolj robustno molekularno-genetsko tehniko (as-PCR) pojasni genetski vzrok pri določenem deležu preiskovancev z nesindromsko obliko naglušnosti, ki so homozigoti za 35delG mutacijo. Delež preiskovancev z odkrito tovrstno genetsko spremembo med različnimi populacijami se v svetu giblje 10–40 %.

Z MLPA tehnologijo, ki smo jo uporabili v nadaljevanju odkrivanja genetskih vzrokov naglušnosti, se delež odkritih sprememb nekoliko poveča, poleg tega se na ta način najdejo predvsem t. i. sestavljeni heterozigotni nosilci. Gre za odkrivanje dodatnih drugih mutacij v genih *GJB2* in *GJB6*, ki v eni kopiji sicer nimajo fenotipskega učinka, v kombinaciji z drugo genetsko spremembo pa vplivajo na fenotip in tako povzročijo naglušnost. Pri nosilcih dveh genetskih sprememb v preiskovanem genu se pri sestavljenih heterozigotih tako pojasni in potrdi genetski vzrok naglušnosti.

Pri preiskovancih, ki po predhodnem testiranju ostajajo nepojasneni, v zadnji stopnji testiranja po priporočilih evropskih smernic izvajamo še sekvenciranje po Sangerju. Metodologija je zadnja v kaskadi stopenjske diagnostične poti in omogoča najnatančnejši vpogled v genom na nivoju enega nukleotida. Delež novo odkritih sprememb s to metodologijo je sicer najnižji, a je del zahtev po evropskih priporočilih za izdajo popolnega genetskega izvida pri naglušnosti.

Tehnologijo NGS sekvenciranja nove generacije s ciljno usmerjenim izborom tarčnih lokusov za naglušnost smo izvedli in preverili na določeni izbrani skupini

preiskovancev. V okviru vpeljave diagnostične laboratorijske poti smo opravili vpeljavo in ocenitev smotrnosti testiranja v prihodnje rutinsko diagnostično delo laboratorija. Po načelih dobre laboratorijske prakse sedaj opravljamo genetsko diagnostiko po laboratorijskem algoritmu: če genetskega vzroka v predhodnih preiskavah do NGS ne odkrijemo, izdamo genetski izvid s priporočilom za obisk Ambulante za genetsko svetovanje UKC MB. Preiskovancem se pojasni potek in vrsta dosedanjih opravljenih preiskav, klinični genetik pa opravi klinični genetski pregled (pregled pridruženih fenotipskih znakov poleg izolirane naglušnosti).

Po pregledu in posvetu klinični genetik skupaj s preiskovancem odloči, ali se preiskovanca napoti še na testiranje z NGS, predvsem zaradi cenovnega vidika.

Uvedena diagnostična laboratorijska pot za naglušnost je v skladu z evropskimi genetskimi in laboratorijskimi smernicami EMQN. Kompletno laboratorijsko delo se odslej opravlja v UKC Maribor in je ustrezno verificirano, validirano ter urejeno tako, da je tudi ekonomsko upravičeno.

Kot uspešno vpeljan laboratorijski postopek smo pri rutinskem delu Laboratorija izdali standardni operativni postopek SOP MGL 219, ki omogoča izvedbo laboratorijskega dela in prenos znanja do vseh zaposlenih v LMG oz. za delo pooblaščenih oseb na področju laboratorijske genetske medicine.

V okviru preverjanja in sodelovanja v evropski mreži kvalitete EMQN smo navedeno stopenjsko diagnostiko uspešno testirali in tudi uporabili ter pridobili certifikat. Na tak način smo učinkovito znižali čas, stroške in druge ekonomske karakteristike, ki jih mora poleg laboratorijskih parametrov imeti učinkovit genetski diagnostični test. Leta 2018 smo z opisano metodologijo sodelovali v procesu preverjanja kvalitete našega dela v evropski shemi za preverjanje kakovosti EMQN in pridobili certifikat o uspešnem verificiranem izvajanju tovrstne diagnostike v Laboratoriju za medicinsko genetiko UKC Maribor. Uspešnost in verodostojnost genetskih rezultatov in informacij iz našega Laboratorija sedaj dokazujemo tudi v evropskem prostoru.

ZAHVALA

Avtorica prispevka se zahvaljuje kolektivu Laboratorija za medicinsko genetiko UKC Maribor, ki je kakorkoli pripomogel k uspešnemu delu, katerega rezultat je objava pričujočega prispevka.

REFERENCE

Duman D, Tekin M. Autosomal recessive nonsyndromic deafness genes: Review. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2012 Jun 1;17:2213-36. Review.

Hilgert N, Smith RJ, Van Camp G. Function and expression pattern of nonsyndromic deafness genes. *Curr Mol Med*. 2009 Jun;9(5):546-64. Review.

Shearer AE, Hildebrand MS, Sloan CM, Smith RJ. Deafness in the genomics era. *Hear Res*. 2011 Dec;282(1-2):1-9. doi: 10.1016/j.heares.2011.10.001. Epub 2011 Oct 8. Review.

Shearer AE, Smith RJ. Genetics: advances in genetic testing for deafness. *Curr Opin Pediatr*. 2012 Dec;24(6):679-86. doi: 10.1097/MOP.0b013e3283588f5e. Review.

Song MH, Lee KY, Choi JY, Bok J, Kim UK. Nonsyndromic X-linked hearing loss. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012 Jan 1;4:924-33. Review.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1434/> (GeneReviews Internet, zadnji pregled strani 27.7.2017); prevzeto na dan 17.07.2020;

Cunningham LL, Tucci DL. N. Hearing Loss in Adults. *N Engl J Med*. 2017 Dec 21;377(25):2465-2473.

Easson A, Walter S. Hearing-impaired young people - a physicians guide. *Clin Med (Lond)*. 2017 Dec;17(6):521-524.

McDermott JH, Molina-Ramírez LP, Bruce IA, et al. Diagnosing and Preventing Hearing Loss in the Genomic Age. *Trends Hear*. 2019 Jan-Dec;23:2331216519878983.

Liu XZ, Yuan H, Mittal R, Yan D. DFNX1 Nonsyndromic Hearing Loss and **Deafness**. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. 2011 Aug 4 [updated 2018 Jul 19] Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2020. Hoefsloot HL, Roux AF, Bitner-Glindzicz MB. EMQN Best Practice guidelines for diagnostic testing of mutations causing non-syndromic hearing impairment at the DFNB1 locus. *Eur J Hum Genet*. 2013 Nov; 21(11): 1325–1329. Published online 2013 May 22. doi: 10.1038/ejhg.2013.83 PMID: 23695287.

Cvetka Grašič Kuhar

POVEZANOST NASTANKA RAKA Z OKUŽBAMI – S Poudarkom na HPV virusih

Izvleček

Med nevarnostnimi dejavniki za nastanek raka so dedni dejavniki, višja starost, življenjski stil, poklicna izpostavljenost in okužbe; z rakom so tako povezane nekatere bakterijske, parazitske in virusne okužbe. Mehanizem virusno pogojenega raka je kronična perzistentna okužba zaradi integracije virusne DNK v gostiteljsko DNK, ki prispeva k iniciaciji in progresiji raka. Okužbe z visokorizičnimi podtipi HPV pripomorejo k polovici vseh virusno povzročenih rakov. Največji delež okužb pripada raku materničnega vratu, v zahodnem svetu pa hitro narašča delež s HPV povezanega raka orofarinksa. Cepljenje proti visokorizičnim podtipom HPV je učinkovito in varno pri preprečitvi nastanka okužbe in preinvazivnih oblik raka materničnega vratu. Pričakuje se, da bo cepljenje bistveno zmanjšalo incidenco rakov, povzročenih s HPV okužbo.

Ključne besede: rak, virusi, humani papiloma virus

UVOD

Nevarnostni dejavniki za rak

K nastanku raka prispevajo številni dejavniki, med njimi dedni dejavniki (5–10 %), višja starost, življenjski stil, poklicna izpostavljenost in okužbe. Več kot polovico vzrokov lahko pripišemo nezdravemu življenjskemu stilu (čezmerni telesni teži zaradi nepravilne prehrane in/ali premajhne telesne aktivnosti – 30 %), vplivu karcinogenov (tobaka (16 %), alkohola (3 %) in UV žarkov) ter reproduktivnim dejavnikom in načinu spolnega življenja (7 %). Poklicna izpostavljenost predstavlja okrog 4 % vzrokov za nastanek raka (3 % sevanje, 1 % nevarne kemične substance). Okužbe v Evropi predstavljajo 9 %, v svetu pa celo 15 % vzrokov raka (1, 2). Nekatere z okužbami povezane oblike raka bi lahko uspešno preprečili z ustreznim življenjskim stilom ali cepljenjem pred izpostavitvijo okužbi, druge pa že uspešno zdravimo s protimikrobnimi zdravili.

Z okužbami povezane oblike raka

Obstajajo močne epidemiološke povezave med določenimi okužbami in rakom. Zelo pomembna je interakcija med mikrobiomom (združbo mikroorganizmov, ki naseljujejo določene dele človeškega telesa) in gostiteljem (človekom) (3). Z dolgotrajnim sobivanjem lahko mikrobi prispevajo k nastanku raka tako, da povzročajo neposredno okvaro DNK, onesposobijo celične kontrolne točke ali neugodno učinkujejo na celične popravilne mehanizme.

Okužbe z bakterijami dolgo časa niso povezovali z nastankom raka (3), sedaj pa je znanih že več povezav med okužbo z določenimi bakterijami in nastankom raka (tabela 1). Bakterijski toksini ali drugi efektorski proteini lahko povzročijo okvaro DNK in tako interferirajo z esencialnimi signalnimi potmi v celicah gostitelja, npr. celično proliferacijo, apoptozo in diferenciacijo. Komponente bakterijske celične stene pa lahko vplivajo na izogibanje imunskemu odgovoru, kot npr. pri *Helicobacter pylori*.

Tabela 1: Prikaz malignomov, ki so povezani z bakterijsko okužbo

Bakterija	Povezanost s tipom raka
<i>Helicobacter pylori</i>	Karcinom želodca izven kardije Nizko maligni B-celični MALT limfom želodca
<i>Salmonella typhi</i>	Karcinom žolčnika
<i>Salmonella enteritidis</i>	Karcinom kolona (ascendentni in transverzalni kolon)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Karcinom materničnega vratu in jajčnikov

V krajih s pogostejšimi okužbami z zajedalci so odkrili tudi povezavo med tovrstno okužbo in rakom žolčevodov ter rakom sečnega mehurja (tabela 2). Poznana je tudi povezava med aflatoksini (ki jih izloča plesen *Aspergillus flavus*) in rakom jeter.

Onkološki inštitut Ljubljana, Sektor internistične onkologije, Zaloška 2, 1000 Ljubljana

Tabela 2. Prikaz malignomov, ki so povezani z okužbo z zajedalci

Zajedalec	Povezanost s tipom raka
Opisthorchis viverrini	Holangiokarcinom
Clonorchis sinensis	Holangiokarcinom
Schistosoma heamatobium	Karcinom sečnega mehurja

Najbolj evidentna pa je povezava med virusi kot povzročitelji raka (tabela 3) (4). Virusi se niso sposobni razmnoževati sami, ampak le v živi celici organizma, ki ga okužijo. Tako okužene celice producirajo nove viruse (produktivna okužba) in spodbudijo imunski odziv gostitelja. Virusi pa lahko svoj genom vgradijo v gostiteljevo DNK, kar povzroči kronično perzistentno okužbo in lahko vodi v nastanek raka. Za večino virusov, ki povzročajo raka, je ena temeljnih značilnosti prav vzpostavitev kronične perzistentne okužbe (abortivna okužba – nezaznana s strani imunskega sistema), ki dolgoročno zavira prirojeni celični obrambni mehanizem in aktivacijo pridobljenega imunskega odziva. Perzistentna virusna okužba prispeva k iniciaciji in progresiji raka, ni pa nujno, da virus zaznamo v vsaki tumorski celici. Gre za fenomen 'hit-and-run' ('udari in zbeži'). Če ta teorija drži, verjetno virusi povzročijo veliko večji delež raka. Eden od virusov, ki ustreza temu principu, je BK poliomavirus. Vsi ljudje se z njim okužijo že v prvih letih življenja in virus ostane pri večini imunokompetentnih oseb v spečem stanju. Pri imunosuprimiranih, še posebej pri bolnikih s transplantirano ledvico, lahko BK virus povzroča nefropatijo in raka mehurja (5). Pri nekaterih oblikah raka, kot je rak materničnega vratu, je HPV obvezen člen kot povzročitelj karcinogeneze in trajne proliferacije. Pri drugih oblikah pa je virus odgovoren za povzročitev le določenega deleža oblik raka.

Tabela 3. Prikaz malignomov, ki so povezani z virusno okužbo

Virus	Povezanost s tipom raka
Epstein–Barr virus	Večina karcinomov nazofarinksa, večina Burkittovih limfomov, nekateri neHodginovi limfomi povezani z imunosupresijo, Hodgkinovi limfomi, ektranodalni limfom celic naravnih ubijalk/T -celic (nazalni tip)
Hepatitis B virus	Nekateri hepatocelularni karcinomi
Hepatitis C virus	Nekateri hepatocelularni karcinomi in neHodginovi

	limfomi
Kaposi sarcoma herpes virus	Kaposi sarkom, primarni efuzijski limfom, nekatere oblike Castlemanove bolezni
HIV 1 (humani virus imunske pomanjkljivosti 1)	Kaposi sarkom, neHodginov limfom, Hodgkinov limfom, karcinom materničnega vratu, anusa, konjunktive
HPV (humani papilloma virusi)	Večina karcinomov materničnega vratu in penisa, nekateri anogenitalni raki (karcinom vulve, vagine, anusa) in karcinomi orofarinksa
Human T-cell lymphotropic virus type 1	T-celična limfom in levkemija pri odraslih
Merkel cell polyomavirus	Karcinom Merklvih celic

Človeški papilomavirusi (humani papiloma virusi – HPV)

Okužba s HPV virusi spada med spolno prenosljive bolezni in prispeva k 50 % vseh oblik raka zaradi okužbe (6). Poznamo več kot 200 genotipov HPV virusov (7). Okužba s HPV nastane s tesnim kožnim ali sluzničnim stikom, ne s slino ali spermo. Nastane pri vaginalnem, analnem and oralnem spolnem odnosu, lahko pa tudi preko ustnic in ust (npr. 'francosko poljubljanje') in med porodom z matere na plod. Vstop virusa je olajšan, če je koža ali sluznica poškodovana. Pogostejše zbolijo osebe z imunsko pomanjkljivostjo (npr. po presaditvi organov, osebe, okužene s HIV ...). Nizko rizični sevi (v 90 % HPV-6 in -11) povzročajo nenevarne okužbe kože (npr. bradavice v genitalnem in analnem predelu), visokorizični podtipi (v 75 % HPV-16 in -18) pa nevarne predrakave in rakave spremembe na materničnem vratu, v nožnici, na penisu, v anusu, orofarinksu (7). Medtem ko lahko raka materničnega vratu povzročajo različni visokorizični podtipi HPV (16, 18, 31, 33, 45, 52 in 58), je za raka orofarinksa značilno, da ga povzroča le okužba s podtipom HPV 16. Pri karcinomu materničnega vratu je okužba v HPV predpogoj za nastanek raka, medtem ko so za raka orofarinksa znani še drugi rizični faktorji, ki prispevajo k nastanku te oblike raka: kajenje in alkohol.

S HPV povezane genitalne okužbe

Okužbe spolovil in zadnjika s HPV so najpogostejše virusne spolno prenosljive okužbe. Mladostniki se prvič okužijo že kmalu po pričetku spolnega življenja. Okužba s HPV je najpogostejša v starosti 20–24 let, nato pogostost okužbe z leti upada. Večina spolno aktivnih ima vsaj enkrat v življenju okužbo s HPV. Večina okužb je prehodnih in same izzvenijo po šestih do dvanajstih mesecih. Okoli 10 odstotkov okužb je dolgotrajnih in

prav te so nevarne za nastanek najbolj resnih bolezni, ki so povezane s HPV. Tveganje za okužbo se viša z večanjem števila spolnih partnerjev, vendar imajo lahko tudi osebe s samo enim spolnim partnerjem okužbo s HPV (6, 7).

Okužba s HPV poteka tako, da virus skozi razpoko v koži ali sluznici pride do bazalne plasti ketinocitov, ki jih okuži. Pride do razmnoževanja okuženih celic, kar imenujemo produktivna faza okužbe, saj nastanejo novi virusi, ki lahko ponovno okužijo zdrave celice epitelijskega tkiva. Večina okužb poteka na ta način. Dejstvo je, da je okužba tiha, nezaznavna. Večina odraslih je okuženih (HPV je najpogostejša spolno prenosljiva bolezen). Večina okuženih se znebi okužbe v 6–12 mesecih. V 10 % okužba postane kronična, virusna DNK se integrira v genom gostiteljske celice keratinocita. Prepisovanje virusnih genov povzroči kopičenje določenih virusnih beljakovin, ki povzročijo, da celice postanejo nesmrtni in po 5 do 15 letih se lahko razvije rak.

Tveganje za okužbo s HPV je odvisno od spolnih navad posameznika in njegovega partnerja. Tabela prikazuje tveganje za okužbo s HPV glede na spol.

Ženske	Moški
Mlade ženske (vrh okuženosti od 20. do 24. leta)	Mladi moški (vrh okuženosti od 25. do 29. leta)
Zgodnji prvi spolni odnos	Zgodnji prvi spolni odnos
Celotno število partnerjev	Število partnerjev/partnerk v življenju
Število predhodnih partnerjev/partneric	Istospolno usmerjeni
Uporaba oralne kontracepcije	Partnerica s CIN: večja verjetnost okužbe
Kajenje	Cirkumcizija: manjša verjetnost okužbe

CIN: cervikalna in situ neoplazija

HPV pozitiven rak orofarinksa

Incidenca s HPV povezanim rakom orofarinksa narašča. V ZDA je glede na poročila Centra za kontrolo bolezni več primerov s HPV povezanega raka orofarinksa kot raka materničnega vratu. 70 % vseh novih primerov raka orofarinksa v ZDA je povezanih s HPV; 82 % je moških, 18 % žensk. Podobni trendi so v severni Evropi. Zbolevalo predvsem moški od 40 do 60 let, z zgodnjim prvim spolnim odnosom, večjim številom oralnih in vaginalnih spolnih partnerjev, ponavadi višjega socioekonomskega statusa in manj pogosto kadilci ali pivci alkohola (8). V Franciji prispeva je v letih 2011–12 bila med raki orofarinksa bil delež HPV pozitivnih rakov

37% (9). V Sloveniji smo v letih 2007–08 beležili še vedno nizek (20%) delež HPV pozitivnih karcinomov orofarinksa (10).

Preprečevanje HPV okužb

Pomembna je varna spolnost. Kondom ne nudi popolne zaščite pred okužbo. Pomembno je tudi nekajenje, saj je pri kadilkih večje tveganje za kronično okužbo.

Primarna preventiva je cepljenje proti HPV, ki je zelo učinkovito za preprečevanje okužbe, če je izvedeno pred okužbo, torej pred prvim spolnim odnosom in v času, ko pričakujemo najvišji odziv na cepljenje (11–12 let starosti) (11). Profilaktično cepljenje se v svetu izvaja od leta 2006, potem ko so velike randomizirane raziskave faze III pokazale visoko učinkovitost in varnost. Metaanaliza 65 raziskav, kjer so analizirali združene individualne podatke preko 60.000 deklic in žena, cepljenih s tremi odmerki cepiva, ki so jih spremljali do 8 let po cepljenju, je pokazala statistično značilno 80 % znižanje prevalence okužbe s HPV 16 in 18, 70 % znižanje diagnoze anogenitalnih bradavic in značilno znižanje predrakavih sprememb (CIN 2). Po 5–9 let po cepljenju so imele deklice v starosti 15–19 let za 51%, v starosti 20–24 let pa za 31% znižanje predrakavih sprememb CIN 2. Pri kohortah, kjer je bila precepljenost >50%, so ugotavljali tudi znižanje pojavnosti anogenitalnih bradavic pri moških, starih do 29 let. Če je precepljena več kot polovica populacije, se breme s HPV okužbo povezanih rakov značilno zmanjša. Gre za t. i. čredni učinek vakcinacije na necepljeno populacijo – na necepljene heteroseksualne moške. Čez desetletja pričakujemo tudi znižanje invazivnega raka materničnega vratu.

Cilj Svetovne zdravstvene organizacije je, da bi z uspešnim izvajanjem nacionalnih strategij cepljenja proti HPV (precepljenost 90% deklic po vsem svetu) lahko v tem stoletju izkoreninili rak materničnega vratu (znižali na incidenco 4/100.000/leto (12, 13). V to bo treba vložiti veliko napora, saj rak materničnega vratu v nekaterih delih sveta (podsaharska Afrika in Indija) predstavlja 25 % vseh oblik raka pri ženskah.

V Sloveniji se je cepljenje pričelo v šol. l. 2009/10. Cepi se deklice v 6. razredu OŠ. Sprva se je uporabljalo 4-valentno cepivo (ščiti proti podtipom HPV-6, 11, 16, 18), od 2016/17 pa 9-valentno cepivo (za 7 visokorizičnih podtipov: 16, 18, 31, 33, 45, 52 in 58, in 2 nizko rizična podtipa). Potrebna sta 2 odmerka, za zamudnice po 15. letu pa 3 odmerki. Če se dekle za cepljenje odloči po 15. letu starosti, za cepljenje ne potrebuje privolitve staršev. Precepljenost se v Sloveniji zvišuje: v letu 2018/19 je bila 59,3%. Najvišja je bila v koroški regiji (86,9% precepljenost) in najnižja v ljubljanski (48,5%), vendar se tudi tu hitro zvišuje, saj je bila leta 2013/15 le 30%. Cepivo ne ščiti pred vsemi podtipi HPV virusa (11). Tudi pri cepljenih ženskah so še vedno potrebni redni ginekološki pregledi in odvzemi brisov materničnega vratu (presejalni pregledi) v skladu s priporočili. Cepijo se lahko tudi fantje. Zaskrbljujoče je, da se je v začetku vakcinacija vključevala le ženske. Postal je namreč

jasno, da HPV ne povzroča le raka materničnega vratu, ampak tudi analne rake in raka orofarinksa pri obeh spolih.

Umrljivost za rakom materničnega vratu v razvitem svetu je upadla zaradi presejalnega testiranja (zgodnjega odkrivanja predrakavih in rakavih sprememb). V Sloveniji se izvaja v okviru programa ZORA. Uspešnost ZORE lahko ponazorimo z rezultati. ZORA letno odkrije 2000 predrakavih sprememb. Zadnja leta zboli okrog 120 žensk (leta 2017 pa 85) (14). Umre 40–50 žensk letno. Te smrti bi lahko preprečili. Kljub temu gre za bistveno izboljšanje glede na leto 2004 in je med najnižjimi incidencami v Evropi. To je rezultat več dejavnikov: ozaveščenosti žensk, dobre organizacije ter kakovostnega dela presejalcev in ginekologov. Z dobro precepljenostjo populacije lahko stanje še izboljšamo. Žal pa zaenkrat ni metode za zgodnje odkrivanje raka orofarinksa, zato pričakujemo porast deleža teh oblik raka.

Zaključek

Poleg drugih nevarnostnih dejavnikov prispevajo k nastanku raka tudi okužbe. Največ oblik raka je povezanih s kroničnimi perzistentnimi virusnimi okužbami. Okužbe z visokorizičnimi podtipi HPV pripomorejo k polovici vseh virusno povzročenim oblikam raka. Največji delež okužb pripada raku materničnega vratu, v zahodnem svetu pa hitro narašča delež s HPV povezanega raka orofarinksa. Visoka precepljenost žensk (in moških) bi lahko izkoreninila to obliko raka.

Literatura

1. <http://www.slora.si/nevarnosti-dejavniki-raka>; dostopano 12. 09. 2020
2. William J. Blot, Robert E. Tarone, Doll and Peto's Quantitative Estimates of Cancer Risks: Holding Generally True for 35 Years, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, Volume 107, Issue 4, April 2015, djv044, <https://doi.org/10.1093/jnci/djv044>
3. van Elsland D, Neefjes J. Bacterial infections and cancer. *EMBO Rep.* 2018;19(11):e46632. doi:10.15252/embr.201846632
4. Gaglia MM, Munger K. More than just oncogenes: mechanisms of tumorigenesis by human viruses. *Curr Opin Virol.* 2018;32:48-59. doi:10.1016/j.coviro.2018.09.003
5. Starrett GJ, Buck CB. The case for BK polyomavirus as a cause of bladder cancer. *Curr Opin Virol.* 2019 Dec;39:8-15. doi: 10.1016/j.coviro.2019.06.009. Epub 2019 Jul 20. PMID: 31336246; PMCID: PMC6901737
6. Poljak M, Kocjan BJ, Oštrbenka. Okužbe s HPV. Zbornik / Obnovitveni kolposkopski tečaj, Ljubljana, 4. september 2015 ; [urednica Špela Smrkolj]. - Ljubljana : Združenje za ginekološko onkologijo, kolposkopijo in cervikalno patologijo SZD : Onkološki inštitut, 2015, str.: 7–29.
7. Timbang MR, Sim MW, Bewley AF, Farwell DG, Mantravadi A, Moore MG. HPV-related oropharyngeal cancer: a review on burden of the disease and opportunities for prevention and early detection. *Hum Vaccin Immunother.* 2019;15(7-8):1920-1928. doi:10.1080/21645515.2019.1600985
8. de Martel C, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *Int J Cancer.* 2017;141(4):664-670. doi:10.1002/ijc.30716
9. Mirghani H, Bellera C, Delaye J, et al. Prevalence and characteristics of HPV-driven oropharyngeal cancer in France. *Cancer Epidemiol.* 2019;61:89-94. doi:10.1016/j.canep.2019.05.007
10. Stojan P, Zadnik V, Šifrer R, et al. Incidence trends in head and neck squamous cell carcinoma in Slovenia, 1983-2009: role of human papillomavirus infection. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2015;272(12):3805-3814. doi:10.1007/s00405-014-3459-7
11. https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploADED/precepljenost_deklic_6.pdf; dostopano 12.9.2020
12. de Sanjose S, Brotons M, LaMontagne DS, Bruni L. Human papillomavirus vaccine disease impact beyond expectations. *Curr Opin Virol.* 2019 Dec;39:16-22. doi: 10.1016/j.coviro.2019.06.006. Epub 2019 Aug 2. PMID: 31382121.
13. Gaglia MM, Munger K. Editorial overview: Viruses and cancer. *Curr Opin Virol.* 2019;39:iii-iv. doi:10.1016/j.coviro.2019.09.002
14. https://zora.onko-i.si/fileadmin/user_upload/dokumenti/izobrazevanja/9ZD/zbornik_ZD/1_Urska_Ivanus_Poro_cilo_o_rezultatih_ZORA_-_Copy.pdf; dostopano 12. 9. 2020

Matej Štuhec^{1,2,3*}

AMBULANTE FARMACEVTA SVETOVALCA NA PRIMARNEM NIVOJU ZDRAVSTVENEGA VARSTVA V POMURJU

Povzetek

Poraba zdravil v Pomurju prikazuje visok delež bolnikov, ki se sočasno zdravijo s številnimi zdravili (t. i. polifarmakoterapija), kar lahko vodi v številne zaplete v zdravljenju in nakazuje potrebo po optimizaciji zdravljenja z zdravili. Ena izmed možnosti optimizacije je vključevanje kliničnih farmacevtov v ambulate farmacevta svetovalca na vse nivoje zdravstvenega sistema. V tem prispevku prikazujemo organizacijsko obliko ambulant farmacevta svetovalca v Pomurju in rezultate dosedanjega dela, ki izhajajo iz objavljenih raziskav. Pozitivni rezultati prikazujejo nujnost širitve storitev farmacevta svetovalca na vse nivoje zdravstvenega varstva v Pomurju in dobro sodelovanje med zdravniki in farmacevti svetovalci ter tudi določene pomanjkljivosti, ki bi jih bilo potrebno odpraviti.

Ključne besede: klinična farmacija, farmacevt svetovalec, ambulantno delo, ambulate farmacevta svetovalca, Pomurje

1. Klinična farmacija, farmacevt svetovalec in zgodovina ambulant farmacevta svetovalca v Pomurju

Klinična farmacija (KF) je mlada smer farmacevtskih znanosti, ki je osredotočena na bolnika kot končnega uporabnika farmacevtskih storitev. V Sloveniji klinično farmacijo definira Zakon o lekarniški dejavnosti (ZLD-1), ki je vstopil v veljavo 27. 1. 2017.

1. Oddelek za klinično farmacijo, Psihiatrična bolnišnica Ormož, Ptujška cesta 33, 2270 Ormož.
 2. Fakulteta za farmacijo. Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko. Univerza v Ljubljani. Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana.
 3. Katedra za farmakologijo. Medicinska fakulteta v Mariboru. Univerza v Mariboru. Taborska Ulica 8, 2000 Maribor
- Email: matejstuhec@gmail.si

ZLD-1 v 4. členu navaja, da je *KF specialistična farmacevtska dejavnost, ki zajema aktivnosti in storitve farmacevta oziroma farmacevtke, ki vodijo k celoviti osebni obravnavi pacienta, racionalni in optimalni uporabi zdravil ter so komplementarne aktivnostim drugih zdravstvenih delavcev. Vključuje sodelovanje specialista klinične farmacije v zdravstvenem timu pri obravnavi posameznega pacienta ali pri pripravi sistemskih rešitev in razvojno-raziskovalnih projektov na področju zdravljenja z zdravili, vključno s sodelovanjem pri kliničnih preskušanjih zdravil.* (1) Ambulantno delo v zdravstvenih domovih izvaja farmacevt svetovalec, ki je KF s pridobljeno kompetenco. V ZLD-1 je v 4. členu definiran tudi farmacevt svetovalec, pri čemer ZLD-1 navaja, da je *farmacevt svetovalec oziroma farmacevtska svetovalka (v nadaljnjem besedilu: farmacevt svetovalec) magister farmacije z licenco in opravljeno specializacijo iz klinične ali lekarniške farmacije, usposobljen za izvajanje farmakoterapijskega pregleda in je zaposlen v lekarniški dejavnosti ter zagotavlja potrebne informacije o zdravilih in farmacevtski obravnavi pacienta. Produkt*

dela farmacevta svetovalca je izvid (t. i. farmakoterapijski pregled), ki je po ZLD-1 v 4. členu definiran: *farmakoterapijski pregled je storitev optimizacije in racionalizacije zdravljenja z zdravili posameznega pacienta s ciljem izboljšati oziroma vzdrževati pacientovo z zdravjem povezano kakovost življenja, ki jo na podlagi informacij o predpisanih oziroma uporabljenih zdravilih ter vseh relevantnih kliničnih informacijah o pacientovem zdravstvenem stanju, in informacijah, ki jih poda pacient oziroma skrbnik, opravi farmacevt svetoalec*. V Pomurju je bil v letu 2012 uveden t. i. pilotni projekt Zavoda za zdravstveno zavarovanje Slovenije (ZZZS) »Farmacevt svetoalec«, ki je bil del razvojne naloge »kakovostnega predpisovanja zdravil« in ga je ZZZS začel izvajati decembra 2012 v zdravstvenih domovih v Pomurju (ZD Murska Sobota, ZD Ljutomer, ZD Gornja Radgona, ZD Lendava/Lendva), nato pa se je v letu 2015 razširil še na OE ZZZS Ljubljana. Po uspešnih rezultatih pilotnega projekta je bila zdravstvena storitev v letu 2016 predlagana kot predlog za financiranje za Splošni dogovor med partnerji in sprejeta kot plačana storitev s strani ZZZS (program »farmacevtskega svetovanja«), kar pomeni, da ima trenutno vsak bolnik, ki ima izbranega osebnega zdravnika v Sloveniji, možnost pregleda pri farmacevtu svetovalcu v zdravstvenem domu. Storitev poteka z napotitvijo osebnega zdravnika s posebnim delovnim nalogom za obravnavo pri farmacevtu svetovalcu. Program farmacevtskega svetovanja je zastavljen tako, da zdravniki zdravstvenega doma in zasebni zdravniki s koncesijo z delovnim nalogom napotijo bolnike s polifarmakoterapijo (prejemanje 5 ali več zdravil) ali bolnike z ostalimi težavami, povezanimi z zdravili (odločitev zdravnika), v ambulantno farmacevta svetovalca. S pomočjo farmakoterapijskega pregleda farmacevt pregleda bolnikovo terapijo zdravljenja z zdravili in zdravniku poda svoje mnenje glede optimizacije bolnikove terapije (farmakoterapijski izvid). Zdravnik se nato odloči, ali bo predloge farmacevta svetovalca upošteval ali ne. Glede na standardni operativni postopek (SOP) farmakoterapijskega pregleda farmacevt svetoalec za pregled potrebuje fizično prisotnost bolnika, saj lahko le tako najbolj objektivno oceni adherenco, prioritete bolnika v zdravljenju z

zdravili, identificira neželene učinke in ostale značilnosti zdravljenja z zdravili. (2, 3, 4) Ambulanta farmacevta svetovalca poteka izključno v zdravstvenem domu, pri čemer nekateri farmacevti svetovalci pokrivajo tudi določene domove za starejše občane. Delo farmacevta svetovalca lahko opravlja specialist klinične ali lekarniške farmacije, ki pridobi kompetenco za farmakoterapijski pregled na Lekarniški Zbornici Slovenije (LZS). V avgustu 2020 je bilo v Sloveniji 44 farmacevtov svetovalcev s kompetenco farmakoterapijskega pregleda, pri čemer je iz dokumentacije razvidno, da njihovo število raste iz leta v leto. (5)

Številne raziskave v svetu kažejo, da so intervencije kliničnih farmacevtov klinično in stroškovno upravičene, saj bistveno zmanjšajo napake v zdravljenju z zdravili, neracionalno polifarmakoterapijo, število potencialno neprimernih zdravil za starostnike (PIM), pomembnih interakcij med zdravili in tako pomembno vplivajo na prisotnost kliničnega farmacevta kot polnopravnega člana tima v bolnišničnem okolju in ambulantah. Za navedeno obstajajo kvalitetni podatki iz dobro zasnovanih kliničnih raziskav in metaanaliz. (6, 7, 8, 9, 10, 11)

O pomembnosti kliničnega farmacevta kot del zdravstvenega tima v vseh procesih zdravljenja z zdravili smo pisali že v našem prejšnjem članku, kjer smo se osredotočili na intervencije v bolnišničnem in tudi ambulantnem okolju ter stanju na tem področju v Sloveniji. V prispevku smo omenili neenakovreden dostop do storitev klinične farmacije v Sloveniji in apelirali na vodstva bolnišnic, da implementirajo storitve klinične farmacije v vseh bolnišnicah, da bodo imeli bolniki enakovredni dostop do storitev klinične farmacije v vseh bolnišnicah in tudi območnih enotah ZZZS. (12)

2. Rezultati dela ambulant farmacevta svetovalca v Pomurju

Pomurje je regija, ki ima visok delež bolnikov s polifarmakoterapijo, kar predstavlja veliko tveganje za zaplete v zdravljenju z zdravili, slabše klinične izide in povečane stroške, zato so potrebne preudarne strategije predpisovanja zdravil. Eden izmed najbolj učinkovitih ukrepov za zmanjšanje neracionalne polifarmakoterapije je neposreda vključitev kliničnega farmacevta, za kar je

veliko dokazov predvsem na primarnem nivoju. (12, 13) Na področju Pomurja je bilo iz ambulant farmacevta svetovalca objavljenih več raziskav. (13, 14, 15, 16) M. Štuhec in soavtorji so z objavljeno raziskavo, izvedeno v ZD Ljutomer, raziskali, ali je z vključevanjem farmacevta svetovalca neposredno v proces zdravljenja z zdravili mogoče izboljšati kakovost predpisovanja zdravil pri starostnikih s polifarmakoterapijo v ZD Ljutomer. Farmacevt svetovalec je v obdobju 2012–2014 opravil 625 različnih intervencij, od tega so jih zdravniki sprejeli 48,6 %. Vključeni so bili tisti bolniki, ki so prejeli 10 ali več zdravil hkrati. Rezultati raziskave so pokazali, da se je z upoštevanjem intervencij farmacevta število predpisanih zdravil zmanjšalo za 11,2 %, povezava je bila statistično značilna ($p < 0,01$). Število kontraindiciranih kombinacij zdravil (t. i. X interakcij) se je z upoštevanjem farmacevta zmanjšalo za 42 %, kar je bilo statistično značilno ($p < 0,041$), in število klinično pomembnih X interakcij se je zmanjšalo za 50 % (iz 6 na 3). Vse upoštrevane intervencije farmacevta svetovalca so privedle do zmanjšanja celokupnih stroškov zdravljenja za 143.488,9 €, kar je vsaj 5-krat več kot strošek te farmacevtske storitve plačnika, in potrjujejo smiselnost navedenih intervencij. Raziskovalca sta dokazala tudi pozitiven vpliv na boljše sledenje smernicam za zdravljenje srčnega popuščanja, v kolikor so bile intervencije farmacevta sprejete, kar dokazuje pomembnost intervencij tudi za boljše sledenje smernicam, kar lahko vodi k boljšim kliničnim izidom. (13, 14) Rezultati raziskave kažejo, da uvedba farmakoterapijskega pregleda v obliki ambulant farmacevta svetovalca v Pomurju pomembno vpliva na izboljšanje kvalitete zdravljenja z zdravili pri bolnikih s polifarmakoterapijo ter vodi do zmanjšanja celokupnih stroškov zdravljenja z zdravili in je tako ekonomsko smiselna. Rezultati raziskave potrjujejo smiselnost uvedbe tovrstne storitve v zdravstveni sistem v Sloveniji in potrjujejo pomembnost farmacevta svetovalca kot partnerja zdravniku v zdravljenju z zdravili.

M. Štuhec in K. Gorenc sta izvedla drugo raziskavo v ZD Ljutomer, v katero sta vključila samo bolnike, starejše od 65 let, ki so imeli vsaj eno duševno motnjo, prejeli hkrati vsaj 10 zdravil in vsaj en antipsihotik. (15) Raziskovalca sta izvedla retrospektivno raziskavo serije

primerov s ciljem proučitve vpliva farmacevta svetovalca na kakovost predpisovanja zdravil pri bolnikih z duševnimi motnjami. V raziskavi sta raziskala pozitivno povezavo med upoštevanjem intervencij farmacevta svetovalca in boljším sledenjem smernicam zdravljenja ($p < 0,05$). Prav tako sta raziskovalca raziskala, da se je po intervenciji kliničnega farmacevta statistično značilno zmanjšalo število zdravil (iz 15,4 na 12,0 na bolnika; $p < 0,05$) (15). Rezultati omenjene raziskave kažejo pozitiven doprinos intervencij farmacevta svetovalca v zdravljenje z antipsihotiki in dobro sodelovanje z osebnim zdravnikom na tem področju. Vsekakor je na tem mestu potrebno izpostaviti številne omejitve raziskave, ki so povezane predvsem z majhnim vzorcem bolnikov, zasnovo raziskave in kratkotrajnostjo raziskave. Obe navedeni raziskavi opisujeta pomemben doprinos k zmanjšanju števila zdravil na bolnika v Pomurju ter boljšemu sledenju smernicam zdravljenja, a pomembna omejitev je kratkoročnost spremljanja zdravljenja in odsotnost merjenja kliničnih izidov (npr. umrljivost, hospitalizacije, klinično izboljšanje).

V namen dolgoročnega spremljanja so raziskovalci zasnovali raziskavo, kjer so vrednotili dolgoročni vpliv intervencij farmacevta svetovalca, pri čemer so se predvsem vprašali, koliko intervencij se ohrani tudi po 6 mesecih od zamenjave terapije. V presečno, retrospektivno, opazovalno in neintervencijsko raziskavo so raziskovalci vključili starostnike iz Pomurja, ki so bili obravnavani s strani farmacevta svetovalca v ZD Lendava/Lendva, ZD Ljutomer in ZD Murska Sobota v obdobju med januarjem 2012 in decembrom 2014. V raziskavo so vključili 243 bolnikov, zdravljenih za srčno-žilnimi boleznimi (hipertenzija, srčno popuščanje, atrijska fibrilacija), s starostjo 65 let ali več, ki so prejeli 10 ali več učinkovin hkrati. Raziskali so prisotnost potencialno nevarnih X interakcij, zaradi katerih je nujna klinična obravnava, in z uporabo PRISCUS liste prisotnost potencialno neprimernih zdravil v terapiji starostnikov. Osredotočili so se na odstopanja v farmakoterapiji bolnikov od priporočenih smernic ter podali primere intervencij, ugotovljenih neskladij zdravljenja hipertenzije, srčnega popuščanja in atrijske fibrilacije. Z binarno logistično regresijo so oblikovali statistična modela in opredelili vpliv

neodvisnih spremenljivk (starost, spol, število zdravil, upoštevanje intervencij) na odvisni spremenljivki v modelu (vpliv števila zdravil, vpliv na skladnost zdravljenja bolnikov s smernicami za bolnike z hipertenzijo). V raziskavo so vključili 243 farmakoterapijskih izidov, ki so skupaj vključevali 3173 zdravil. 9,1 % vseh predpisanih zdravil so predstavljala PIM. Od skupno 980 zabeleženih intervencij, od katerih je bilo sprejetih 479 s strani zdravnika (48,9 %), je farmacevt svetovalec predlagal 320 intervencij na področju zdravljenja srčno-žilnih bolezni, od tega jih je zdravnik sprejel 140 (43,8 %). Skupno je farmacevt svetovalec v 48,2 % vseh intervencij predlagal ukinitve zdravila, v 21,5 % spremembo režima zdravljenja, v 17,7 % zamenjavo zdravila ter v 12,7 % uvedbo novega zdravila. Upoštevanje intervencij farmacevta svetovalca je vplivalo na zmanjšanje števila zdravil za 7,3 %, zmanjšanje potencialnih X interakcij za 47,8 %, zmanjšanje števila neprimernih zdravil za starostnike za 26,6 % ter povečanje skladnosti zdravljenja bolnikov s smernicami. Delo farmacevta svetovalca in njegove intervencije so bile finančno upravičene. Rezultati te raziskave dokazujejo upravičenost vpeljave tovrstne storitve v zdravstveni sistem in večje sledenje smernicam zdravljenja v dobrobit bolnikom in zmanjšanja celokupnih stroškov; storitev tako predstavlja eno izmed najpomembnejših orodij optimizacije farmakoterapije pri bolnikih s srčno-žilnimi obolenji. (16) Uspešno implementirani sistem klinične farmacije na primarnem nivoju kaže, da bo temu moral slediti še sekundarni nivo in vzpostaviti ustrezno povezavo s sistemom »brezširne skrbi«, ki je prav tako vključena v ZLD-1 in ki ga bodo bolnišnice morale izvajati v letu 2023. (1)

Kljub zelo vzpodbudnim rezultatom dela v ambulantah farmacevta svetovalca v Pomurju na žalost realizacija ambulant v Pomurju ni pozitivna. Tako podatki o realizaciji storitev za ZD Murska Sobota v letu 2019 znašajo le 1,89 % planirane realizacije, za ZD Gornja Radgona 26,85 %, za ZD Lendava/Lendva 13,6 %, čemur sledi najvišja realizacija ZD Ljutomer 63,02 %. (17) Navedeni podatki so skrb vzbujajoči, saj pomenijo, da v določenih okoljih v Pomurju zdravniki na primarnem nivoju bolnikov ne napotujejo k farmacevtu svetovalcu in občani tako ne pridejo do navedenih

storitev. Za izboljšanje realizacije bo potrebna večja osveščenost vodstev ZD-jev in aktivnost osebnih zdravnikov, farmacevtov ter vodstev ZD-jev za večjo napotitev bolnikov v ambulantno farmacevta svetovalca. Glede na visoko pojavnost polifarmakoterapije (5 ali več zdravil hkrati) v Pomurju, ki praktično vedno izstopa v Sloveniji, navedena nizka realizacija predstavlja neustrezen ukrep v zmanjšanju polifarmakoterapije v Pomurju (bolniki imajo storitev na voljo, a je zelo slabo izkoriščena). Eden izmed ukrepov za boljšo osveščenost bolnikov je zloženka ZZZS »Kdo je farmacevt svetovalec?«, ki jo je za boljše poznavanje tega programa in farmacevta svetovalca, ki deluje v zdravstvenem domu, izdal ZZZS. (18)

3. Zaključek

Pomurje kot slovenska regija predstavlja eno izmed največjih središč polifarmakoterapije, zato so potrebni učinkoviti in hitri ukrepi za zmanjšanje le-te v realni klinični praksi. Ambulante farmacevta svetovalca predstavljajo eno izmed najmočnejših orodij v zmanjšanju iracionalne polifarmakoterapije. Ambulante v Pomurju predstavljajo novejšo zdravstveno storitev, ki se je razvila v Pomurju in potem prenesla na celotno Slovenijo. Umeščenost ambulant v zdravstveni sistem je posledica dobrega dela farmacevtov, zdravnikov in podpore ZZZS. Rezultati objavljenih raziskav kažejo neprecenljiv vpliv intervencij farmacevta svetovalca na zmanjšanje števila zdravil, pomembnih interakcij, števila PIM ter boljše sledenje smernicam zdravljenja, pri čemer so intervencije pozitivne tako kratko- kot dolgoročno. Navedeni rezultati kažejo, da bi farmacevti svetovalci lahko prevzeli določene naloge zdravnikov in tako zmanjšali težave v primarnem zdravstvu, kot je to primer v Združenem Kraljestvu. Realizacija programa v Sloveniji pa žal ne sledi namenu in rezultatom, saj ambulate niso dobro izkoriščene. To pomeni, da večina potrebnih bolnikov v Pomurju nima ustreznega dostopa do ambulant farmacevta svetovalca, kar predstavlja nujen izziv za vse deležnike, ki lahko realizacijo izboljšajo, tako da povečajo fizično napotitev bolnikov v ambulate in informiranost bolnikov o navedeni storitvi v Pomurju.

Zahvala

/

Literatura

1. Zakon o lekarniški dejavnosti (ZLD-1). Dosegljivo 18.11.2017 na: <http://www.pisrs.si/Pis.web/pregledPredpisa?id=ZAKO7375>
2. Marušič Premuš, A. Farmakoterapijski pregledi v bolnišnicah in v ambulantah – izkušnje in evalvacija dela. *Farmacevtski vestnik* 2014, 65, 187-190.
3. Marušič Premuš, A. Klinični farmacevt in svetovanje zdravniku in bolniku pri zdravljenju z zdravili. Dostopno 18.11.2017 na: <http://www.nasa-lekarna.si/clanki/clanek/klinicni-farmacevt-in-svetovanje-zdravniku-in-bolniku-pri-zdravljenju-z-zdravili>
4. Zavod za zdravstveno zavarovanje Slovenije. Splošni dogovor za pogodbeno leto 2016. Dostopno 18.9.2019 na: <http://www.zzzs.si/egrativap/827714AA6BBB87D2C1257FD40041FCC2>
5. ZZZS. Seznam farmacevtskih svetovalcev in program sestankov kakovostnega predpisovanja zdravil. Dosegljivo 30.10.2020 na: <https://www.zzzs.si/ZZZS/info/egrativa.nsf/o/4E9DF46E4CC1A955C1257FE80037607F?OpenDocument>
6. NEHI (angl. Network for Excellence in Health Innovation) oz. Mreža za odličnost v zdravstvu inovacije v ZDA. Dosegljivo na: [www.nehi.net/ Natančen dokument: http://www.nehi.net/bendthecurve/sup/documents/Medication_Errors_%20Brief.pdf](http://www.nehi.net/Natančen dokument: http://www.nehi.net/bendthecurve/sup/documents/Medication_Errors_%20Brief.pdf)
7. Štuhec, M. Napake v zdravljenju z zdravili: realnost in prihodnost. Medication Errors: Realities and Perspectives. *Anali PAZU* 2017, 7, 10-17.
8. Leape, LL.; Cullen, DJ.; Clapp, MD.; Burdick, E.; Demonaco, HJ.; Erickson, JI.; Bates, DW. Pharmacist participation on physician rounds and adverse drug events in the intensive care unit. *JAMA* 1999, 282, 267-270.
9. Kucukarslan, SN.; Peters, M.; Mlynarek, M.; Nafziger, DA. Pharmacists on rounding teams reduce preventable adverse drug events in hospital general medicine units. *Arch Intern Med* 2003, 163, 2014-2018.
10. Chisholm-Burns, MA.; Kim Lee, J.; Spivey, CA.; Slack, M.; Herrier, RN.; Hall-Lipsy, E.; Graff Zivin, J.; Abraham, I.; Palmer, J.; Martin, JR.; Kramer, SS.; Wunz, T. US pharmacists' effect as team members on patient care: systematic review and meta-analyses. *Med Care* 2010, 48, 923-933.
11. Weeks, G.; George, J.; Maclure, K.; Stewart D. Non-medical prescribing versus medical prescribing for acute and chronic disease management in primary and secondary care. *Cochrane Database Syst Rev* 2016, 11, CD011227.
12. Štuhec, M. Klinični farmacevt kot del zdravstvenega tima v obravnavi bolnika : potreba ali nujno zlo? = Clinical pharmacist as a healthcare team member in patient management : need or necessary evil?. *Anali PAZU* 2018, 8, 8-12.
13. Gorenc, K. Klinično ovrednotenje intervencij farmacevta svetovalca v Zdravstvenem domu Ljutomer pri starejših bolnikih s polifarmakoterapijo. Magistrska naloga. Dostopno 11.11.2017 na: http://www.ffa.uni-lj.si/docs/default-source/knjiznica-doc/magistrske/2017/gorenc_katja_mag_nal_2017.pdf?sfvrsn=2
14. Štuhec, M., Gorenc, K. & Zelko, E. Evaluation of a collaborative care approach between general practitioners and clinical pharmacists in primary care community settings in elderly patients on polypharmacy in Slovenia: a cohort retrospective study reveals positive evidence for implementation. *BMC Health Serv Res* 19, 118 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12913-019-3942-3>
15. Štuhec, M., & Gorenc, K. (2019). Positive impact of clinical pharmacist interventions on antipsychotic use in patients on excessive polypharmacy evidenced in a retrospective cohort study, *Global Psychiatry*, 2(2), 155-164. doi: <https://doi.org/10.2478/gp-2019-0013>
16. Štuhec, M., Flegar, I., Zelko, E., Kovacic A. Clinical pharmacist interventions in cardiovascular disease pharmacotherapy in elderly patients treated with excessive polypharmacy in primary care: A retrospective pre-post observational multicentric study. *Wiener klinische Wochenschrift* 2020, Under review.
17. ZZZS. Seznam farmacevtskih svetovalcev in program sestankov kakovostnega predpisovanja zdravil. Dosegljivo 30.9.2020 na: https://partner.zzzs.si/wps/portal/portali/ai_zv/zdravstvene_storitve/plan_in_realizacij_a/podatki_o_planu_in_realizaciji_zdrav_storitve

18. ZZZS. Zloženska_Kdo je farmacevt svetovalec_julij 2018.pdf Dosegljiv 30.9.2020 na:
<https://www.zzs.si/zs/internet/zs.nsf/56b7e3c634e2a638c125762d0046923e/66>

[4b9b6118a9e1b0c12582c9002bad2e/\\$FILE/Zlo%C5%BEenka_Kdo%20je%20farmaceut%20svetovalec_julij%202018.pdf](https://www.zzs.si/zs/internet/zs.nsf/56b7e3c634e2a638c125762d0046923e/66)

**Simon Ülen^{1,2}, Ines Gabor², Veronika Poštrak²,
Rok Vogrinčič³**

DOLOČANJE LASTNOSTI ZVEZD S SPEKTROSKOPIJO

POVZETEK

Spektroskopija je metoda, ki se uporablja za preučevanje določenih objektov s pomočjo njihove izsevane svetlobe. Namen raziskovalne naloge je z amaterskim teleskopom ustvariti dovolj kakovostne spektre zvezd, da lahko preko valovnih dolžin spektralnih črt razberemo elementarno sestavo le-teh. Na začetku raziskovalne naloge so predstavljene osnove spektroskopije in klasifikacija spektrov. V nadaljevanju je z emisijo in absorpcijo natančno predstavljen nastanek spektrov in spektralnih črt. Predstavljene so tudi lastnosti spektralnih črt. Na koncu teoretičnega dela je predstavljeno še elektromagnetno valovanje in sevanje zvezd ter jedrske reakcije, ki potekajo v zvezdah. V poglavju Eksperimentalni del so predstavljene metode dela in uporabljena oprema za izdelavo spektrov. Temu sledijo postopki eksperimentalnega dela in dobljeni rezultati, ki so kasneje analizirani. Končni del vsebuje še ovrednotene hipoteze. V nalogi je dokazano, da se elementarne sestave zvezd med seboj razlikujejo in da je z amaterskim teleskopom in digitalnim fotoaparatom možno posneti razločne spektre zvezd, ki so uporabni za nadaljnjo analizo.

Ključne besede: *spektroskopija zvezd, barvni spekter, spektralne črte, lastnosti zvezd*

Uvod

Spektroskopija je metoda, ki se uporablja za preučevanje določenih objektov s pomočjo njihove izsevane svetlobe; obenem je tudi veda, ki proučuje interakcije med materijo in elektromagnetnim valovanjem. Vsaka snov, kemijski element ali spojina seva (ali absorbira) svetlobo točno določenih valovnih dolžin. Spektroskopija nam omogoča, da preko izsevane oziroma absorbirane svetlobe pridobimo dodatne informacije, ki jih s fotometričnimi opazovanji ne moremo pridobiti (na primer kemijska sestava, radialna hitrost in temperatura zvezde). [1]

Spekter svetlobe predstavlja gostoto svetlobnega toka v odvisnosti od valovne dolžine. Ta spekter je zvezen pri trdnih in kapljevinskih svetilih, pri plinskih pa je črtast. [2]

Vrste spektrov

Ločimo zvezni in črtasti spekter. Pri zveznem spektru se barve prelivajo ena v drugo, podobno kot barve pri pojavu mavrice. Dobimo ga, kadar belo oziroma vidno svetlobo pošljemo skozi uklonsko mrežico (zaradi uklona in interference svetlobe) ali skozi optično prizmo (zaradi loma svetlobe). Črtasti spekter je niz črt s točno določenimi, za atom značilnimi valovnimi dolžinami, ki so posledica prehodov atomov v vzbujeno stanje. Na podlagi tega ločimo emisijski in absorpcijski spekter.

Emisijski spekter: pri prehodu iz vzbujenega stanja z energijo W_2 v vzbujeno stanje z energijo W_1 izseva atom svetlobo s frekvenco ν , za katero velja:

$$W_2 - W_1 = h\nu = hc/\lambda,$$

kjer je Planckova konstanta $h = 6,63 \times 10^{-34} \text{ Js}$.

Frekvenca svetlobe je sorazmerna z izsevano energijo.

Absorpcijski spekter: dobimo ga, če atome posameznega elementa posvetimo z belo svetlobo – atomi absorbirajo iz vpadne svetlobe tisto, z določeno valovno dolžino, kot jo samo sevajo.

¹Alma Mater Europaea, Slovenska ulica 17, 2000 Maribor

²Gimnazija Franca Miklošiča Ljutomer, Prešernova 34, Ljutomer

³Fakulteta za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani, Jadranska ulica 19, 1000 Ljubljana

Emisija in absorpcija kažeta, da poteka izmenjava med svetlobo in atomi v paketih, v katerih je energija sorazmerna s frekvenco svetlobe. Pakete svetlobe imenujemo fotoni. Energija fotonov je $W = h\nu$. Zvezde, ki so plinasta nebesna telesa, torej oddajajo črtasti spekter. Zvezde se med seboj razlikujejo po spektrih, saj so ti posledica absorpcije svetlobe v plinih, površinske temperature in drugih dejavnikov v zvezdni atmosferi. Tako imajo zvezde različno "barvo", tip ter kemijsko sestavo. [2] [3]

Spektralne črte

Spektralne črte nastanejo zaradi prehodov zunanjih elektronov v atomih na nižji ali višji energijski nivo. Razlika v energiji med dvema energijskima nivojema ustreza energiji fotona, ki je odvisna od frekvence izsevane ali absorbirane svetlobe med prehodom elektrona z enega na drugi nivo. Valovne dolžine spektralnih črt so značilne za kemijski element ali molekulo, ki seva ali absorbira.

Absorpcija svetlobe je odvisna tudi od frekvence svetlobe. Vsaka snov ima absorpcijski spekter, ki je zanj značilen. Črte absorpcijskega spektra pa dobimo samo s plini posameznih atomov. Absorpcijski spekter dobimo le, če gre svetloba iz vira, preden dospe do nas, skozi absorpcijski material. [4]

Intenziteta spektralnih črt nam pove, kje v zvezdni atmosferi so črte nastale. Pri večini zvezd so zgornje plasti atmosfere hladnejše kot nižje plasti. Šibke črte nastajajo globoko v zvezdni atmosferi, njihova središča postanejo ozka in globoka; močne črte pa nastajajo visoko v zvezdni atmosferi. Šibke črte predstavljajo šibko absorpcijo, to pomeni, da ima zvezdna atmosfera majhno neprosojnost in da lahko vidimo globoko v njo. Nasprotno pa predstavljajo močne črte: zvezdna atmosfera ima visoko absorpcijo in veliko neprosojnost. [2] [4]

Spektralni razredi

Intenziteta črt v spektru je v osnovi odvisna od stopnje ionizacije elementov in prisotnosti različnih ionov in atomov v zvezdni atmosferi. Na osnovi tega zvezde klasificiramo v različne razrede. Prvi je tako klasifikacijo opravil Secchi in zvezde razdelil v pet skupin. Modernejšo klasifikacijo pa je opravil Henry Draper.

Zvezde so tako razdeljene v sedem osnovnih razredov in štiri podrazrede, znotraj katerih jih delimo še po intenzitetah posameznih črt od 0 do 9. Zaporedje spektralnih tipov dopolnijo še izsevnostni razredi od I do V. [2]

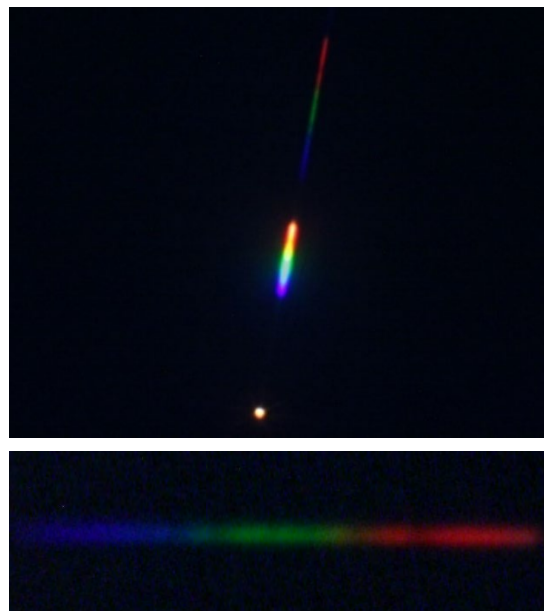
Eksperimentalni del

Preden smo se lotili merjenja spektrov, smo morali poiskati primerne zvezde za raziskovanje. Pri izbiri zvezd smo upoštevali, da so dovolj svetle, torej da imajo čim manjšo navidezno magnitudo. Navidezna magnituda zvezde nam namreč pove, kako svetla je zvezda (manjša magnituda pomeni svetlejšo zvezdo). Izbrali smo šest zvezd z dokaj različnimi spektralnimi tipi za lažje primerjanje (Aldebaran, Mirfak, Sirij, Rigel, Betelgeza, Mirah).

Opravljanje meritev

Meritve so bile opravljene 12. 12. 2019 v Borejcih.

Surove slike spektrov željenih zvezd smo dobili z digitalnim fotoaparatom Canon EOS 350D v primarnem gorišču 20-centimetrskega reflektorskega teleskopa STIGMA (f/6.0), z uporabo uklonske mrežice Star Analyser 100. [5] [6]



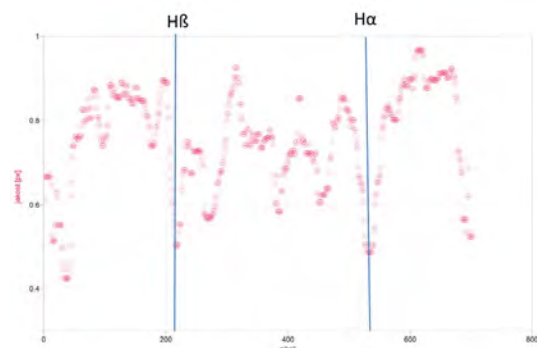
Slika 1: Osnovna in obrezana slika spektra Betelgeze

Z uporabo teleskopa, uklonske mrežice in fotoaparata smo posneli spektre, ki so prikazani na zgornji sliki. Na sliki lahko opazimo ničti, prvi, drugi in del tretjega reda

spektrov. Za nadaljnje raziskovanje je bil najprimernejši drugi red, saj je dovolj močno in razločno viden, obenem pa je spekter dovolj široko razporejen. Prvo sliko smo obdelali tako, da smo dobili le čisti spekter zvezde (spodnja slika).

Obdelava spektrov

Za obdelavo zgoraj dobljenih slik spektrov smo uporabili program MaxIm DL: funkciji Line Profile Window in Vertical Line. Za lažje opazovanje celotnega spektra smo spekter pretvorili v črno-belo, saj nam je to omogočalo jasnejše in bolj pregledno opazovanje spektralnih črt. Vertical Line smo premikali po spektru v razmaku enega piksla in si za pet sredinskih slikovnih točk (pikslov) zabeležili jakost po dolžini celotnega spektra (v pikslih). Vseh pet vrednosti smo sešteli, nato pa od tega odšteli petkratno vrednost ozadja, da smo dobili le čisti signal spektra. S pomočjo programa »continuum_fit.py«, napisanega v jeziku Python, smo zgladili kontinuum spektra (del spektra, kjer ni prisotnih absorpcijskih ali emisijskih črt). Ko smo dobili prilagojene spektre, smo se lotili pretvarjanja enot s pomočjo dveh vodikovih črt.



Slika 2: Graf jakosti svetlobe v pikslih od modre proti rdeči

$$534px \dots\dots\dots 656,28 \text{ nm}$$

$$218px \dots\dots\dots 486,10 \text{ nm}$$

$$656,28 \text{ nm} - 486,10 \text{ nm} = 170,18 \text{ nm}$$

$$534px - 281px = 316px$$

$$170,18 \text{ nm} / 316px = 0,54 \quad \square \quad 1px = 0,54 \text{ nm}$$

Glede na to pretvorbo smo dobili nastavek za računanje pretvorbe za vse ostale grafe:

$$656,28 - x = 0,54(534 - px)$$

*vrednost piksla pri posamičnem grafu za Hα črto

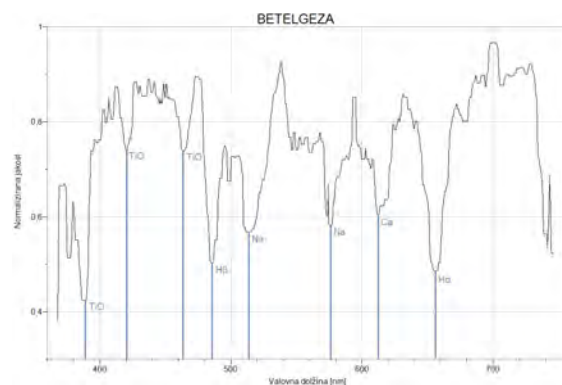
Diskusija

Valovne dolžine absorpcijskih črt smo odčitali in jih primerjali z že znanimi valovnimi dolžinami, ki smo jih našli v bazi podatkov NIST. Na ta način smo ugotovili, kateremu elementu pripada določena spektralna črta. V tabelah je razvidna odčitana vrednost na dobljenih grafih, ki je primerjana z najbližjo najdeno vrednostjo iz baze podatkov. [7]

*Opomba: zaradi gostote nekaterih spektralnih črt ne moremo točno določiti valovne dolžine, zato je včasih v tabeli podana vrednost od – do. Prav zaradi tega se na mestih s podobnimi valovnimi dolžinami lahko pojavlja več elementov. Potrebno se je zavedati, da smo za oceno pretvorbe piksla v valovno dolžino uporabili predpostavko, da je spekter linearen, hkrati pa smo zanemarili premik absorpcijskih črt zaradi radialne hitrosti zvezde. Zvezde z neničelno radialno hitrostjo imajo spekter premaknjen zaradi Dopplerjevega pojava.

V članku je podana samo analiza Betelgeze, vse prej omenjene izbrane zvezde so bile analizirane na enak način, razbrani elementi pa so nas pripeljali do potrditve na začetku zadanih hipotez.

Betelgeza



Slika 3: Graf spektra Betelgeze

Valovna dolžina – graf [nm]	Element	Valovna dolžina teorija [nm]
387,90	TiO	387,50
419,22	TiO	418,0
463,50–464,04	TiO	463,50 – 464,04
485,64	Hβ	486,13
513,00–513,76	Na	514,80
576,36	Ca	585,70
656,28	Hα	656,28
612,54	Ca	612,20

Betelgeza spada v spektralni razred M. V tem razredu v zvezdni atmosferi prevladuje titanov oksid, pojavljajo se nevtralne kovine, atmosfera pa premore veliko natrija. Z našim umerjenim spektrom smo potrdili prisotnost spektralnih črt vseh teh elementov in kovinske spojine.

Preko ustvarjenih spektrov zvezd smo zaznali spektralne črte elementov, ki variirajo od razreda do razreda. Elementarna sestava zvezd se skozi njihovo življenje spreminja, zato se zvezde, ki jih opazujemo na nočnem nebu, razlikujejo po elementarni sestavi.

Iz nastalih spektrov izbranih zvezd se da razbrati spektralne črte helija, vodika in mnogih kovin. Ugotovili smo, da helij in vodik prevladujeta v sestavi bolj vročih zvezd, s padanjem temperature zvezde pa se pojavlja vedno več kovinskih spektralnih črt.

Pri nastajanju grafa smo opazili mnogo odmikov od kontinuuma, a za vsak odmik nismo našli primerne valovne dolžine, ki bi nakazovala na prisotnost določenega elementa. Niti en odklon od krivulje se ni popolnoma ujemal s teoretično vrednostjo valovne dolžine, vsi imajo manjši odklon, kar nakazuje na premik spektralne črte zaradi neničelne radialne hitrosti zvezde. Odmiki, katerim nismo pripisali nobene elementarne vrednosti, so nastali kot posledica šuma na posnetku ali pa so bili zaradi preslabe ločljivosti premalo izraziti. Zaradi razširitev in premikov spektralnih črt ne bo možno natančno določiti vseh sestavnih elementov izbrane zvezde.

Balmerjevo serijo vodika smo zaznali v vseh zvezdah, saj smo preko spektralne črte $H\alpha$ izračunali in umerili skalo valovnih dolžin. A vseeno, nikoli nismo zaznali vseh spektralnih črt Balmerjeve serije vodika.

Zaključek

Iz še tako navadne in šibke svetlobe, ki jo na širnem nebu oddajajo zvezde, smo ustvarili 6 spektrov zvezd ter preko spektralnih črt ogromno izvedeli o njihovi elementarni sestavi ter posledično o njihovi masi in življenjski dobi. Raziskavo bi lahko nadgradili z meritvami radialnih hitrosti, saj so izmerjeni spektri zaradi le-teh malo zamaknjeni. Za to bi morali posneti kalibracijsko lučko. Tipično so to ThAr (Torij Argon) lučke, ki so v laboratorijskem sistemu (ob teleskopu). S pomočjo njihovih črt bi potem kalibrirali spektre zvezd. Iz premika črt bi potem izračunali radialno hitrost zvezde, to pa bi nam povedal Dopplerjev premik: $v/c = \Delta\lambda/\lambda_0$.

Viri

- [1] Galičič, M. Nebo, premazano z zvezdami: več kot sto odgovorov o vesolju in astronomiji. Učila International, Tržič, 2003.
- [2] Čadež, A. Astronomija: Fizika zvezd. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za matematiko in fiziko, Ljubljana, 1999.
- [3] Fizika 3: Učbenik za fiziko v 3. letniku gimnazij in štiriletnih strokovnih šol. Mladinska knjiga, Ljubljana, 2014.
- [4] Emin, M. Astronomska spektroskopija. http://mafija.fmf.uni-lj.si/seminar/files/2009_2010/Seminar-EminSlo.pdf (29-2-2020)
- [5] RSpec Real-time Spectroscopy <https://www.rspect-astro.com/star-analyser/> (10-12-2019)
- [6] Vogrinčič, R. Teleskop Stigma <https://rokvogrincic.wixsite.com/stigma/oprema> (12-12-2019)
- [7] Basic Atomic Spectroscopic Data. https://physics.nist.gov/PhysRefData/Handbook/element_name.htm (6-2-2020)