



- 267** Serotoninski receptor tipa 2A: od biologije do klinike – *Ivo Kosmačin*
- 279** Dihalne funkcije pri bolnikih z amiotrofično lateralno sklerozo – *Tina Bregant, Lea Leonardis*
- 289** Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : sprožilna in presnovna ojačitvena pot – *Eva Paradiž, Andraž Stožer, Maša Skelin Klemen*
- 301** Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : nevrohormonska ojačitvena pot – *Eva Paradiž, Maša Skelin Klemen, Andraž Stožer*
- 313** Mumifikacija, saponifikacija in vloga plesni pri razkroju trupla – *Petra Bukovec, Simon Rekanovič, Ana Sever, Tomaž Zupanc*
- 331** Poročanje mamografskega izvida – *Valentina Ahac, Maja Marolt Mušič*
- 341** Sakubitril/Valsartan: novo zdravilo za zdravljenje srčnega popuščanja – *Mark Jovanovič, Marta Cvijič*
- 353** Subaortna stenoza pri odraslem bolniku z dvolistno aortno zaklopko – *Tadeja Sotler, Rok Zbačnik, Polonca Kogoj*
- 363** Redek primer zaprte rupture globoke upogibalke prsta v coni III dlani: klinični primer – *Luka Tomšič Ahčin, Andrej Lapoša*
- 369** Diagnostični izziv
- 375** V spomin
- 377** Novice
- 389** Seznam diplomantov
- 391** Navodila avtorjem
- 397** Guidelines for Authors

MEDICINSKI RAZGLEDI

Biomedicinski raziskovalni, strokovni in pregledni članki

UREDNIŠTVO

Društvo Medicinski razgledi
Korytkova ulica 2
1000 Ljubljana
Slovenija

T (01) 524 23 56 **F** (01) 543 70 11

E info@medrazgl.si

S www.medrazgl.si

POR: 02014-0050652588

GLAVNI UREDNIK

Tilen Kristanc

ODGOVORNI UREDNIK

Anžej Hladnik

TEHNIČNI UREDNIKI

Maša Majcen, Jurij Martinčič, Anita
Meglič, Samo Roškar, Gašper Tonin

UREDNIŠKI ODBOR

Tjaša Gortnar, Lucija Kobal, Nina Kobal,
Vanesa Koračin, Katja Kores, Ana Karin
Kozjek, Nik Krajnc, Naneta Legan, Gaja
Markovič, Jure Puc, Uroš Tršan, Lana
Vodnik, Nika Vrabič, Ines Žabkar, Nika
Žagar, Sandra Žunič

LEKTORJA

Mateja Hočevar Gregorič, Gašper Tonin

LEKTORICA ZA ANGLEŠKI JEZIK

Lea Turner

PRELOM

SYNCOMP d. o. o.

TISK

Nonparel d. o. o.

FOTOGRAFIJA NA NASLOVNICI

Anžej Hladnik

MEDICINSKE RAZGLEDE

ABSTRAHIRAJO IN/ALI INDEKSIRAJO

Biological Abstracts, Biomedicina
Slovenica, Bowker International,
Chemical Abstracts, Nutritional
Abstracts

PODPORNIKI

Medicinska fakulteta UL
Javna agencija za raziskovalno
dejavnost RS

Revija izhaja štirikrat letno v 1.800 izvodih.

Cena izvoda je **6 €**, za študente **4 €**, za ustanove **10 €**.

COPYRIGHT © MEDICINSKI RAZGLEDI 2019

Vse pravice pridržane. Razmnoževanje ali razširjanje posameznih delov ali celotne publikacije s katerimkoli sredstvom brez pisnega privoljenja založbe je prepovedano.

- 267** Serotoninski receptor tipa 2A: od biologije do klinike – *Ivo Kosmačič*
- 279** Dihalne funkcije pri bolnikih z amiotrofično lateralno sklerozo – *Tina Bregant, Lea Leonardis*
- 289** Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : sprožilna in presnovna ojačitvena pot – *Eva Paradiž, Andraž Stožer, Maša Skelin Klemen*
- 301** Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : nevrohormonska ojačitvena pot – *Eva Paradiž, Maša Skelin Klemen, Andraž Stožer*
- 313** Mumifikacija, saponifikacija in vloga plesni pri razkroju trupla – *Petra Bukovec, Simon Rekanovič, Ana Sever, Tomaž Zupanc*
- 331** Poročanje mamografskega izvida – *Valentina Ahac, Maja Marolt Mušič*
- 341** Sakubitril/Valsartan: novo zdravilo za zdravljenje srčnega popuščanja – *Mark Jovanovič, Marta Cvijič*
- 353** Subaortna stenoza pri odraslem bolniku z dvolistno aortno zaklopko – *Tadeja Sotler, Rok Zbačnik, Polonca Kogoj*
- 363** Redek primer zaprte rupture globoke upogibalke prsta v coni III dlani: klinični primer – *Luka Tomšič Ahčin, Andrej Lapoša*
- 369** Diagnostični izziv
- 375** V spomin
- 377** Novice
- 389** Seznam diplomantov
- 391** Navodila avtorjem
- 397** Guidelines for Authors

Ivo Kosmačin¹

Serotoninski receptor tipa 2A: od biologije do klinike

Serotonin Type 2A Receptor: from Biology to Clinical Medicine

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: serotonin, 5-HT_{2A}, nevropsihiatrija, serotoninski receptor

Serotoninske receptorje so odkrili že v petdesetih letih prejšnjega stoletja. Čez desetletja so odkrili več tipov in podtipov teh receptorjev ter že leta 1988 klonirali receptor, danes imenovan 5-HT_{2A}. Izražanje tega receptorja je prisotno v več tkivih, vključno s prebavnim traktom in trombociti, vendar se ga danes obravnava večinoma v sklopu osrednjega živčevja, kjer se izraža v neokorteksu, hipokampusu, amigдали in možganskem deblu. Igra številne pomembne vloge, med drugim je vpleten pri čustvovanju, mišljenju, pomnjenju in zaznavanju okolice. Ena od glavnih značilnosti tega receptorja je sposobnost aktivacije več znotrajceličnih signalnih poti v odvisnosti od agonista, ki je vezan nanj. 5-HT_{2A} je verjetno vpleten v patogenezo nekaterih duševnih motenj in nevroloških bolezni, preko nje pa delujejo nekatera zdravila, ki večinoma spadajo med antipsihotike in antidepresive. Nanj delujejo tudi številne eksperimentalne spojine in rekreativne droge, ki močno vplivajo na zavest. Polimorfizmi gena, ki kodira 5-HT_{2A}, so bili predmet številnih raziskav, v katerih je bil raziskovan kot možni dejavnik tveganja za razvoj nekaterih bolezni, njegova vloga in izražanje pa sta verjetno spremenjena pri določenih vedenjskih vzorcih (samomorilno vedenje) in nekaterih boleznih (Alzheimerjeva bolezen, shizofrenija in druge). Kljub navedenemu pomen serotoninskega receptorja 2A v osrednjem živčevju ostaja nejasen.

ABSTRACT

KEY WORDS: serotonin, 5-HT_{2A}, neuropsychiatry, serotonin receptor

Serotonin receptors were first discovered in the 1950s. Over the course of decades, several types and subtypes of these receptors were discovered, and in 1988 the receptor named 5-HT_{2A} was cloned. The expression of this receptor is present in several tissues, including in the gastrointestinal tract and platelets, but now it is mostly studied in the central nervous system, where it is expressed in the neocortex, hippocampus, amygdala and the brainstem. It plays an important role in the modulation of many functions, including emotion, reasoning, memory and perception of the environment. One of the main features of this receptor is its ability to activate several intracellular pathways depending on the agonist bound. 5-HT_{2A} is likely involved in the pathogenesis of certain psychiatric

¹ Ivo Kosmačin, dr. med., Inštitut za farmakologijo in eksperimentalno toksikologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana; ivokosmacin@yahoo.com

and neurological conditions. The therapeutic effect of certain drugs is partly mediated through this receptor. These drugs are mostly antipsychotics or antidepressants by class. There are many experimental compounds and recreational drugs that induce altered states of consciousness that work through this receptor. Polymorphisms of the 5-HT_{2A} encoding gene have been the subject of numerous studies as a potential risk factor for the development of certain conditions, and its function and expression are likely altered in certain patterns of behaviour (suicidal behaviour) and diseases or disorders (Alzheimer's disease, schizophrenia, and others). Despite all available knowledge, the importance of 5-HT_{2A} in the nervous system remains unexplained.

UVOD

Serotonin ali 5-hidroksitriptamin je endogeni monoamin, ki ima v organizmu višje razvitih živali vlogo lokalnega hormona in živčnega prenašalca, v drugačni vlogi pa se pojavlja tudi pri rastlinah in glivah (1–3). Izhodna spojina pri biosintezi serotonina v človeku in ostalih živalih je esencialna aminokislina triptofan. Stopnja, ki omejuje hitrost sinteze, je hidroksilacija triptofana v 5-hidroksitriptofan (5-HTP), proces, ki ga katalizira encim triptofan hidroksilaza. Po dekarboksilaciji s pomočjo encima triptofan dekarboksilaza nastane iz 5-HTP serotonin (4). Razgradnja serotonina poteka večinoma na zunanji mitohondrijski membrani s pomočjo encima monoamin oksidaze (MAO) (5). V zadnjem času se serotonin omenja skoraj izključno v povezavi z osrednjim živčevjem, kjer sodeluje pri uravnavanju spanja, prehranjevanja, čustvovanja ter višjih živčnih funkcijah, kot sta pomnjenje in učenje (6–8). Pojavlja se sicer tudi v drugih (perifernih) tkivih (9). Tam ga največ najdemo v prebavnem traktu, kjer ga izločajo enterokromafine celice, ter v krvi, kjer ga kopičijo trombociti (10, 11). Izven osrednjega živčevja sodeluje pri vzdrževanju homeostaze glukoze, pri hemostazi, vnetnem odzivu in celjenju ran ter pri remodelaciji tkiva (12, 13).

Serotonin vpliva na celice preko serotoninskih receptorjev (14). Skoraj vsi serotoninski receptorji spadajo v skupino z G-proteinom povezanih receptorjev (angl. *G-protein coupled receptor*, GPCR) (15). Gre

za veliko skupino več tisoč bolj ali manj podobnih transmembranskih beljakovin. Nekatere imajo značilno zgradbo sedmih transmembranskih heliksov, imenovanih tudi heptahelikalni receptorji, ki prenašajo signale komunikacijskih molekul iz medceličnine v notranjost celice in sodelujejo pri homeostazi na vseh ravneh – od uravnavanja vode in elektrolitov do vloge pri vedenju živali (16, 17). Normalno delovanje osrednjega živčevja je v veliki meri odvisno od GPCR. Ni torej presenetljivo, da so mnogi GPCR vpleteni v patofiziološko dogajanje številnih duševnih in živčnih motenj ter bolezni. Te beljakovine so tarča večine najpogostejše uporabljenih zdravil pri zdravljenju nevropsihiatričnih motenj in v medicini nasploh (18, 19). Edini predstavnik serotoninskih receptorjev, ki ne spada med GPCR, je serotoninski receptor 3 – za katione (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) prepusten ionotropični kanal (angl. *ligand gated ion channel*), ki se ob vezavi serotonina odpre in sproži depolarizacijo nevrona (20).

Serotonin je prvič opisal italijanski znanstvenik Vittorio Erspamer leta 1937, ko je prikazal, da izvleček enterokromafinskih celic krči črevo. Do takrat še neznano snov je poimenoval enteramin (21). Leta 1948 so ameriški znanstvenik Maurice M. Rapport in sodelavci iz seruma izolirali snov z močnim vazokonstriktorskim učinkom, ki jo je poimenoval serotonin (tvorjenka iz serum in tonus) (22). Leta 1952 se je izkazalo, da je to ista snov kot enteramin (23).

Leta 1953 sta Twarog in Page dokazala prisotnost serotonina v osrednjem živčevju podgane, psa in zajca (24). Do konca desetletja so že odkrili serotonininski receptor in njegovo heterogenost; Gaddum in Picarelli sta leta 1957 na univerzi v Edinburgu pri svojih poskusih na ileumu morskega prašička ugotovila, da morfin blokira nekatere učinke serotonina na krčenje črevesa, druge pa dibenzilin. Tako so poimenovali dve vrsti receptorjev; M in D (25). Leta 1979 sta Snyder in Peroutka natančneje opisala dve različni populaciji receptorja 5-HT, črke sta zamenjala za številke in receptorje označila s 5-HT1 in 5-HT2 (druga skupina sovпада z vrsto receptorja D) (26, 27). Danes so serotonininski receptorji na podlagi njihove genetske strukture in farmakoloških lastnosti razdeljeni v sedem skupin, označenih s številkami 1–7, nekatere izmed teh skupin (1 in 2) so naprej razdelane še v podtipе, ki jih označujemo z velikimi črkami. V prvi skupini poznamo pet podtipov (5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D, 5-HT1E in 5-HT1F), v drugi pa tri (5-HT2A, 5-HT2B in 5-HT2C) (28). V nadaljevanju se bomo osredotočili na podtip A skupine 2, torej na receptor 5-HT2A, njegovo delovanje v zdravem organizmu in njegov pomen pri različnih boleznih ter njihovem zdravljenju.

ANATOMSKA PORAZDELITEV

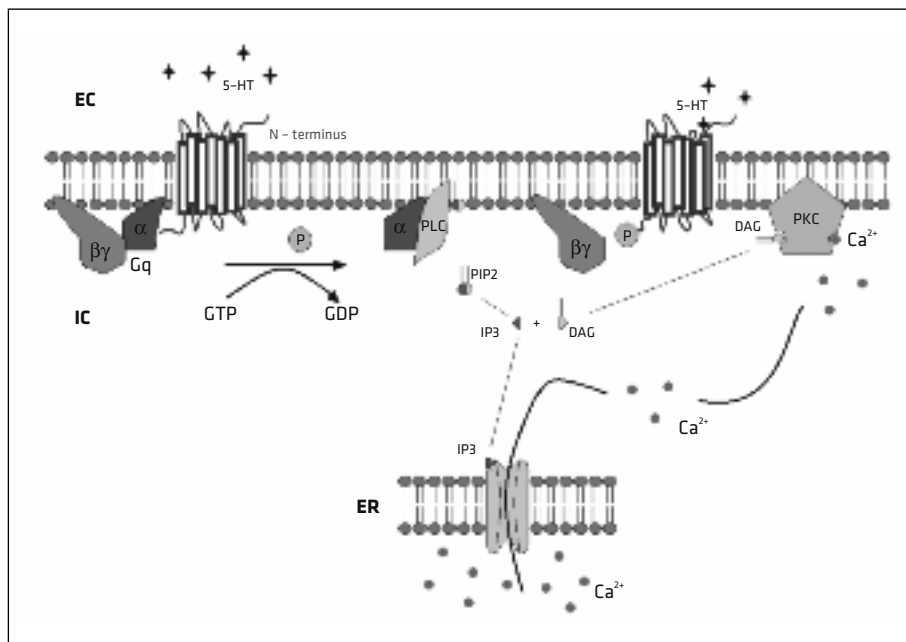
5-HT2A je široko porazdeljen po osrednjem živčevju. Najgostejše je izražen ob končičih serotoninergičnega nitja, predvsem v neokorteksu, posebno v apikalnih dendritih piramidnih celic V. sloja. Receptorji v tem delu naj bi bili vključeni v uravnavanje najvišjih živčnih funkcij, kot sta delovni spomin in pozornost (29). Izraženost receptorja je bila dokazana v področjih, vključenih v čustvovanje, kot so amigdala, hipokampus, talamus in entorinalni korteks. Omenjeno so Shukla in sodelavci leta 2014 potrdili z *in situ* hibridizacijo RNA zapisa in beljakovine same (30, 31). Receptor se pojavlja še na anatomsko bližnjih možganskih strukturah,

kot so jedro olfaktornega živca in deli bazalnih ganglijev (*nucleus accumbens* in *nucleus caudatus*) (32). Beljakovina je v znatni količini prisotna tudi na ravni možganskega debla, in sicer v ventralnem tegmentalnem področju, kjer vpliva na mezokortikalno in mezolimbčno dopaminergično pot, ki sta vključeni v ugodje, hotenje oz. motivacijo in pozitivno ojačevanje vedenja (angl. *positive reinforcement*) (33, 34). Leta 2002 so Geurts in sodelavci dokazali prisotnost 5-HT2A na Golgijevih celicah granularnega sloja in Purkinjevih celicah malih možganov pri podganah (35). Na periferiji je visoko izražen predvsem na trombocitih, celicah imunskega sistema (monociti, limfociti), fibroblastih in nevronih perifernega živčnega sistema (36–39).

ZNOTRAJCELIČNA SIGNALNA POT

Receptor 5-HT2A spada med GPCR, ki so vezani na heterotrimerni G-protein, imenovan G_q (15). Vezava učinkovine ali prenašalca (ki deluje kot agonist) na aktivno mesto receptorja povzroči pri tem tipu receptorja disociacijo G-proteina na dve podenoti (α in $\beta\gamma$). Podenota α aktivira fosfolipazo C (angl. *phospholipase C*, PLC). PLC nato hidroksilira fosfolipidno komponento celične membrane, imenovano fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat (angl. *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate*, PIP2) v diacilglicerol (DAG) in inozitol trifosfat (angl. *inositol trisphosphate*, IP3). IP3 aktivira kalcijeve kanalčke na membrani endoplazemskega retikuluma, ki omogočijo tok kalcija v citosol. Kalcij in DAG nadalje aktivirata proteinsko kinazo C (PKC) (slika 1). Aktivirana PKC fosforilira efektorske beljakovine, ki uravnavajo celično presnovo (40).

Novejše raziskave kažejo, da to ni edini način signalizacije preko tega receptorja. Obstajata najmanj dve znotrajcelični poti, preko katerih se lahko spremeni celični metabolizem ob aktivaciji receptorja 5-HT2A. Druga pot vključuje formacijo arahidonske kisline (angl. *arachidonic acid*, AA) preko



Slika 1. Znotrajcelična pot z G_q-povezanim proteinom. EC – zunajcelična tekočina, IC – znotrajcelična tekočina, ER – endoplazemski retikulum, Ca²⁺ – kalcijev ion, GTP – glukoza trifosfat, GDP – glukoza difosfat, PLC – fosfolipaza C, P – fosfatna skupina, PKC – fosfokinaza C, PIP₂ – fosfaditilinozitolbisfosfat, IP₃ – inozitol trifosfat, DAG – diacilglicerol, 5-HT – serotonin, α – α-podenota beljakovine G_q, βγ – βγ-podenota beljakovine G_q.

fosfolipaze A2 (angl. *phospholipase A2*, PLA2) (41). Katera signalna pot se bo aktivirala, je odvisno od tega, kateri agonist se veže na aktivno mesto. Gre za sposobnost učinkovine, da prednostno aktivira druge poti v notranjosti celice kot neka druga učinkovina, čeprav je vezana na isto vezavno mesto istega receptorja in obe delujeta agonistično. Ta koncept imenujemo funkcijska selektivnost (angl. *functional selectivity*) (42). Tako serotonin, endogeni ligand, prednostno aktivira PLC-IP₃ signalno pot v razmerju približno 3 : 2, LSD (dietilamid lizergične kisline) pa PLA2-AA signalno pot v razmerju približno 2 : 1 (43).

DINAMIČNO URAVNAVANJE

Kot mnogi drugi GPCR je 5-HT_{2A} podvržen dinamičnemu uravnavanju; senzitivizaciji in desenzitivizaciji, sposobnosti, ki varuje sistem pred pretirano aktivacijo oz. poveča njegovo

občutljivost. Do omenjenega procesa pride s pomočjo endosomske internalizacije receptorjev iz membrane in njihove reciklaže (44). Uravnavanje tega receptorja je edinstveno med monoaminskimi receptorji, saj poleg agonistov receptor internalizirajo tudi nekateri antagonisti (45). Dinamično uravnavanje je najverjetneje delno povezano s terapevtskim učinkom psihofarmakoterapije, ki deluje na serotoninski sistem. To se še bolj kaže pri zdravih, ki izboljšajo simptomatiko šele po več tednih terapije. Taki so predvsem selektivni zaviralci ponovnega privzema serotonina (angl. *selective serotonin reuptake inhibitors*, SSRI), selektivni zaviralci ponovnega privzema serotonina in noradrenalina (angl. *selective serotonin–norepinephrine reuptake inhibitors*, SNRI) ter triciklični antidepresivi. Ko je serotoninski sistem kronično izpostavljen učinkovini (neposredno pri atipičnih antidepresivih in

posredno preko zaviranja privzema serotonina pri SSRI, SNRI in tricikličnih antidepresivih), se internalizirani 5-HT_{2A} razgradi v lizosomu. Tako se s časom zmanjša celotno število razpoložljivih receptorjev za reciklažo. Posledica je manjša odzivnost postsinaptičnega nevrona – lastnost, ki je morda pomembna pri izboljšanju simptomatike depresivnih bolnikov (46, 47). Obstaja še en mehanizem, po katerem lahko receptor 5-HT_{2A} uravnava signalizacijo. Novejše raziskave so namreč pokazale, da lahko ti receptorji tvorijo stabilne homo- in heteromerne komplekse z ostalimi GPCR, vključno z metabotropnim glutamatnim receptorjem tipa 2 (mGluR₂) in dopaminskim receptorjem D₂. Posledice tvorbe takih kompleksov v živem organizmu še niso znane, vendar lahko z veliko verjetnostjo pričakujemo, da se lastnosti receptorja in s tem njegov vpliv na celični metabolizem pod takimi pogoji spremenijo (48, 49). V podporo tej hipotezi so leta 2011 Moreno in sodelavci pokazali odsotnost trzanja glave (angl. *head-twitch response*), povzročenega z agonisti 5-HT_{2A} DOI (2,5-dimetoksi-4-iodoamfetamin) in LSD pri miškah z izbitim genom za mGlu₂ receptor (50).

LIGANDI IN NJIHOVI UČINKI

Različni ligandi prožijo kompleksne farmakološke vzorce aktivnosti na receptorjih 5-HT_{2A}. Lahko so polni ali delni agonisti, nevtralni antagonist ali inverzni agonisti. Aktivnost različnih ligandov lahko delno pojasni model, po katerem je receptor vedno v ravnotežju med aktivnim in neaktivnim stanjem. Agonisti po tem modelu »zaklenejo« receptor v aktivni obliki in tako povzročijo, da je več receptorjev v takšni konformaciji. Antagonisti pa premaknejo ravnotežje v nasprotno smer, torej proti neaktivnemu stanju receptorja (51). Kljub temu najverjetneje obstaja kompleksnejši odnos med strukturo in vlogo tega receptorja (52).

Serotonin je glavni endogeni ligand za serotoninske receptorje, poleg serotonina

pa je v uporabi veliko eksogenih ligandov z visokimi afinitetami ravno za 5-HT_{2A}. Številni agonisti na tem receptorju pri ljudeh povzročajo psihozam podobna stanja zavesti, pri katerih pride do sinestezijske oz. združenja več zaznavnih modalnosti, npr. vida in sluha (53, 54). Najznačilnejši predstavnik teh agonistov je gotovo LSD, med laično populacijo dobro poznan kot rekreativna droga, ki korenito spremeni doživljanje zunanjega sveta ter močno vpliva na mišljenje oz. čustvovanje subjekta. Čeprav ima LSD afiniteto za mnoge druge receptorje, med drugim za dopaminske receptorje D₂, 5-HT_{2C} in 5-HT_{1A}, je aktivacija 5-HT_{2A} nujna za indukcijo značilnih psihotomimetičnih stanj, saj se pri blokiranju 5-HT_{2A} s selektivnim antagonistom ta učinek bistveno zmanjša ali celo odpravi (55, 56). Podobno delujeta tudi psilocibin, glavna psihoaktivna snov iz psilocibinskih gob, in meskalin, psihoaktivna snov mehiškega kaktusa pejoči. Terapijo z agonisti 5-HT_{2A} so v preteklosti pogosto uporabili kot poskusni model psihoze. Vedenjski vzorci in doživljanje sveta pod vplivom takšne učinkovine so namreč zelo podobni psihotični epizodi (57). V skladu s tem modelom lahko delno pojasnimo delovanje antipsihotikov druge generacije – učinkovin, pri katerih je blokiranje 5-HT_{2A} receptorja ključno za njihov terapevtski učinek, v nekaterih primerih morda celo pri taki obliki psihoze, ki je na antipsihotik prve generacije refraktarna. Izraženost motenj gibanja oz. ekstrapiramidne simptomatike kot neželenega učinka zdravljenja naj bi bila pri antipsihotikih druge generacije nižja. Tak farmakološki profil avtorji pripisujejo predvsem razliki v afiniteti teh dveh skupin antipsihotikov do dopaminskega receptorja D₂. Antipsihotiki prve generacije prožijo svoje terapevtske učinke skoraj izključno preko blokade receptorja D₂ v mezolimbicni in mezokortikalni poti, a je vezava teh učinkovin na enake receptorje v drugih nevroanatomskih regijah neizogibna. Blokada

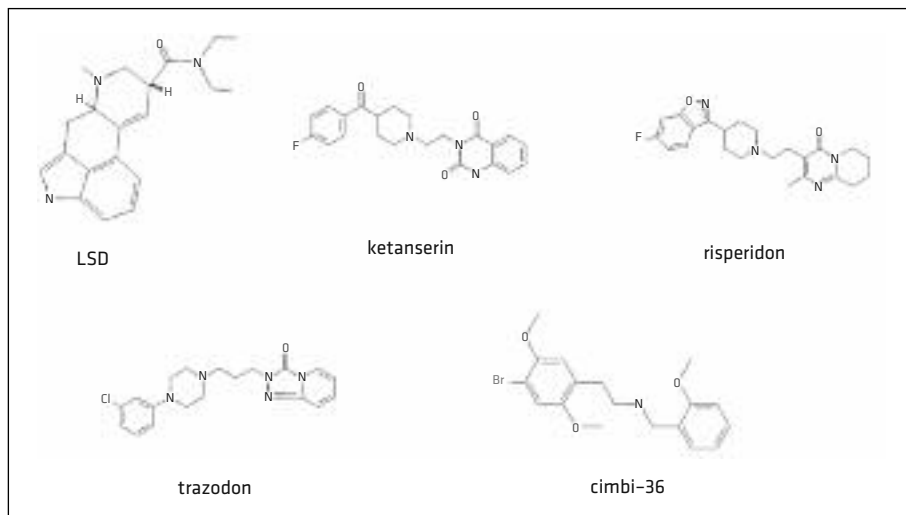
receptorjev D2 v nigrostriatni poti je vzrok motnjam gibanja, ki uporabnost teh zdravil zelo omejujejo. Po drugi strani imajo antipsihotiki druge generacije bistveno manjšo afiniteto do dopaminskih receptorjev, njihovo primerljivo učinkovitost pa omogoča sočasno blokiranje serotoninskih receptorjev. Med slednjimi je verjetno najpomembnejši podtip 2A, saj je gosto izražen na mezolimbčnih in mezokortikalnih dopaminergičnih nevronih (58–60). Primeri takih učinkovin so kvetiapin, klozapin, olanzapin in risperidon. Zdravila iz te skupine se razen za psihotične motnje uporabljajo tudi pri augmentaciji zdravljenja depresije (61). S tem se ujema tudi dejstvo, da imajo nekoliko novejši atipični antidepresivi, kot je mirtazapin, antagonistično delovanje ravno na 5-HT_{2A} (62).

Večina do sedaj naštetih učinkovin je ne-selektivnih in se vežejo na nekaj ali na veliko drugih receptorjev; serotoninskih, dopaminskih, histaminskih, muskarinskih in drugih, torej takih, ki imajo strukturno sorodne ligande in so pogosto vpleteni v podobne živčne funkcije (62–67). V poskusne namene raziskovalci navadno uporabljajo visoko selektivne ligande, kot so ketanse-

rin (antagonist), MDL100907 (antagonist) in cimbi-36 (agonist), ki imajo visoko afiniteto za 5-HT_{2A} in nizko afiniteto za vse ostale receptorje (slika 2). Te ligande, navadno označene z radioaktivnimi izotopi, uporabljajo v laboratorijih za dokazovanje prisotnosti receptorja na celičnih linijah, celičnih kulturah in vzorcih iz živali *in vitro* ter pri poskusih za raziskovanje porazdelitve in vloge receptorja *in vivo* (68–71).

GENETIKA IN POLIMORFIZMI V MEDICINI

Gen *HTR2A*, ki kodira receptor 5-HT_{2A}, je bil eden izmed prvih kloniranih genov za serotoninski receptor (72). Lokus gena na kromosomu je 13q14-q21, velik je približno 65 kilobaznih parov, sestavljen pa je iz treh eksonov, ločenih z dvema intronom. Na tem genu je bilo identificiranih veliko polimorfizmov. Nekateri med njimi morda igrajo vlogo pri patogenezi bolezenskih stanj. Eden takih je polimorfizem promotorja gena *HTR2A*; -1438G>A, ki je po mnenju nekaterih avtorjev pomemben pri motnjah razpoloženja, natančneje pri bipolarni motnji razpoloženja, saj je pri ljudeh s to motnjo razširjenost značilno večja (73).



Slika 2. Nekateri ligandi z aktivnostjo na serotoninskem receptorju 2A in njihova kemijska struktura.

Ravno tako obstaja povezava med polimorfizmi gena za ta receptor in motnjami zaznavanja. V eni izmed raziskav ugotavljajo večjo pogostost 102T>C pri bolnikih s shizofrenijo (74). Obstajajo tudi raziskave, opravljene na vzorcu iz slovenske populacije. Videtičeva in sodelavci so pokazali možno povezanost med polimorfizmom 1420C>T in žrtvami samomora, ki sicer ni statistično značilna ($p = 0,067$) (75). Polimorfizmi igrajo vlogo tudi pri mentalni dejavnosti izven konteksta duševnih motenj. De Quervian in sodelavci so leta 2003 dokazali statistično značilno slabšo zmogljivost pomnjenja pri ljudeh z mutacijo v tem genu (76). Wu in sodelavci pa v nekoliko nenavadni raziskavi iz leta 2016 dokazujejo vpliv polimorfizma tega receptorja na uspeh pri organiziranem iskanju partnerja, kjer vsak možni partner govori z drugim le nekaj minut (angl. *speed dating*) (77). Vpliv mutacij receptorja seže tudi dlje od osrednjega živčevja. Kling in sodelavci so leta 2008 dokazali povečano dovzetnost bolnikov z nekaterimi polimorfizmi 5-HT_{2A} za razvoj revmatoidnega artritisa. Med preostalimi polimorfizmi je tudi že omenjen 102T>C (78). Polimorfizmi gena verjetno igrajo vlogo tudi pri farmakoterapiji, ki deluje preko receptorja 5-HT_{2A}. Arranz in sodelavci so v metaanalizi prikazali povezavo med polimorfizmom 102T>C in neodzivnostjo na antipsihotično zdravljenje (klozapin) (79). V eni izmed raziskav so McMahon in sodelavci prikazali večjo odzivnost bolnikov na zdravljenje z antidepresivom (citalopramom) pri enem izmed genotipov (80). Polimorfizmi verjetno ne vplivajo zgolj na učinkovitost zdravljenja, ampak tudi na pogostost neželenih učinkov (81).

Kljub temu ne gre spregledati, da gre večinoma le za posamezne raziskave z majhnimi vzorci, ki ne prikažejo celotne slike in spadajo med dokaze nizke ravni. Pregledni članek iz leta 2007, ki je analiziral več raziskav o vplivu posameznih polimorfizmov na razvoj duševnih obolenj, ni uspel

potrditi nobenega polimorfizma kot dejavnika tveganja. Kar nekaj izmed analiziranih raziskav je imelo negativen rezultat, nekatere s pozitivnim rezultatom pa niso bile ponovljive. Nekonsistentne rezultate lahko delno pojasni razlika v velikosti vzorca, uporaba drugih laboratorijskih tehnik ali metod, različno definirane diagnoze in etnična heterogenost populacij. Potrebni bo še veliko raziskav, da dokončno opredelimo vlogo genetike tega receptorja pri patogenezi in zdravljenju bolezni (82).

VLOGA SEROTONINSKEGA RECEPTORJA TIPA 2A PRI PATOGENEZI NEVRODEGENERATIVNIH IN DUŠEVNIH MOTENJ

Pri številnih boleznih osrednjega živčevja se v sklopu patogeneze pojavlja okvara receptorja 5-HT_{2A}. Leta 2014 so Melse in sodelavci v raziskavi z visokoselektivnim radiooznačenim ligandom z oznako R91150 in sledenjem s pozitronsko emisijsko tomografijo (PET) prikazali spremenjeno izražanje receptorja 5-HT_{2A} pri nezdravljeni, na novo diagnosticirani Parkinsonovi bolezni v bazalnih ganglijah (83). Raziskava iz leta 2016 na posmrtnih vzorcih prefrontalnega korteksa, odvzetih bolnikom s Parkinsonovo boleznijo, pa je pokazala povečano vezavo selektivnega liganda MDL100907 v primerjavi s kontrolnimi vzorci (84). Podobne raziskave so bile opravljene tudi pri drugih nevrodegenerativnih boleznih. Pri Alzheimerjevi bolezni je verjetno eden od patogenetskih mehanizmov okvara serotoninskega sistema. V tem kontekstu je bilo največ pozornosti posvečeno ravno receptorju 5-HT_{2A} zaradi njegove potencialne vloge pri vedenjskih, čustvenih in zaznavnih motnjah v sklopu te bolezni, kar vključuje halucinacije, agresivne izpade, tesnobo in motnje afekta. Pri več raziskavah je bil receptor 5-HT_{2A} manj izražen pri bolnikih z Alzheimerjevo boleznijo oz. je vezal manj označenega liganda, ravno tako pa naj bi bil vpleten

v sproščanje amiloidnega prekursorskega proteina, katerega prekomerno kopičenje je ena glavnih patoloških značilnosti te oblike demence (85–88). Serotoninski sistem in z njim receptor 5-HT_{2A} sta vpletena tudi v uravnavanje epileptičnega dogajanja, kar bi morda lahko izkoristili pri nadzorovanju napadov (89, 90). S poskusi so namreč dokazali manjšo umrljivost mišk, ki so jim pred sprožitvijo napadov dali agoniste 5-HT_{2A} (91).

Največ raziskav tega receptorja v povezavi z bolezenskimi stanji je narejenih v kontekstu duševnih motenj (92). Zmanjšano gostoto serotoninskih receptorjev skupine 2 v rezinah prednjega režnja posmrtnih možganskih vzorcev pri bolnikih s shizofrenijo so konsistentno dokazovali že od 80-ih let, kasneje pa so to potrdili tudi bolj specifično za 5-HT_{2A} (93, 94). Podobne rezultate so dobili pri *in vivo* in *post mortem* raziskavah bolnikov z depresijo, pri katerih opisujejo zmanjšano vezavo označenih selektivnih ligandov na ta receptor (95, 96). Obstaja pa nekaj konfliktnih dokazov: pri raziskavi najstniških žrtev samomora so pokazali večjo gostoto 5-HT_{2A} receptorja v prefrontalnem korteksu ali hipokampusu kot pri kontrolah (97). Podobne rezultate so dobili tudi pri nekaterih *in vivo* študijah (98, 99).

Metaanaliza iz 2016 je pokazala, da večina posameznih raziskav ne dobi stati-

stičnoznačilnega rezultata, združitve rezultatov iz več raziskav pa kaže na to, da je gostota receptorja zmanjšana tako pri depresiji kot pri shizofreniji in nekaterih drugih motnjah (bipolarna motnja razpoloženja), zvišana naj bi bila le pri anksiozni motnji (100).

ZAKLJUČEK

Kljub nejasnemu pomenu in vlogi receptorja 5-HT_{2A} pri bolezni in zdravljenju gre za ključno tarčo, preko katere lahko s farmakološkimi prijemi vplivamo na fiziologijo človeka. To podpira dejstvo, da učinek nekaterih zdravil in ostalih učinkovin kljub zelo širokemu farmakološkemu profilu pripisujejo ravno vezavi na ta receptor. Verjetno je, da bomo z nadaljnjimi raziskavami dokazali okvaro receptorja kot vzrok za nastanek nekaterih duševnih motenj in bolezni osrednjega živčevja. Z boljšim razumevanjem odnosa med strukturo in funkcijo samega receptorja ter vpliva receptorja na širše vzorce nevronske aktivnosti bo moč narediti učinkovine z bolj specifičnim delovanjem – take, ki bodo izničile pomanjkljivo receptorsko delovanje v sklopu bolezenskega stanja ali poskušale ublažiti okvaro drugih sistemov in s tem izboljšale simptomatiko.

LITERATURA

1. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, et al. Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects. Basic Neurochemistry. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.
2. Ramakrishna A, Giridhar P, Ravishankar G. Phyto serotonin: A review. Plant Signal Behav. 2011; 6 (6): 800–9.
3. Sainio EL, Pulkki K, Young SN. L-Tryptophan: Biochemical, nutritional and pharmacological aspects. Amino Acids. 1996; 10 (1): 21–47.
4. Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AM. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. Neurogastroenterology and Motility. Vol. 21. 2009. p. 1239–49.
5. Binda C, Mattevi A, Edmondson DE. Structural properties of human monoamine oxidases A and B. In: International review of neurobiology. 2011. p. 1–11.
6. Meneses A, Liy-Salmeron G. Serotonin and emotion, learning and memory. Rev Neurosci. 2012; 23 (5–6): 543–53.
7. Jean A, Laurent L, Delaunay S, et al. Adaptive control of dorsal raphe by 5-HT4 in the prefrontal cortex prevents persistent hypophagia following stress. Cell Rep. 2017; 21 (4): 901–9.
8. Dugovic C. Role of serotonin in sleep mechanisms. Rev Neurol (Paris). 2001; 157 (11 Pt 2): 16–9.
9. Siegel JZ, Crockett MJ. How serotonin shapes moral judgment and behavior. Ann N Y Acad Sci. 2013; 1299 (1): 42–51.
10. Cirillo C, Vanden Berghe P, Tack J. Role of serotonin in gastrointestinal physiology and pathology. Minerva Endocrinol. 2011; 36 (4): 311–24.
11. Duerschmied D, Bode C. The role of serotonin in haemostasis. Hamostaseologie. 2009; 29 (4): 356–9.
12. Kim H, Toyofuku Y, Lynn FC, et al. Serotonin regulates pancreatic beta cell mass during pregnancy. Nat Med. 2010; 16 (7): 804–8.
13. Mann DA, Oakley F. Serotonin paracrine signaling in tissue fibrosis. Biochim Biophys Acta. 2013; 1832 (7): 905–10.
14. Saxena PR. Serotonin receptors: subtypes, functional responses and therapeutic relevance. Pharmacol Ther. 1995; 66 (2): 339–68.
15. Millan MJ, Marin P, Bockaert J, et al. Signaling at G-protein-coupled serotonin receptors: recent advances and future research directions. Trends Pharmacol Sci. 2008; 29 (9): 454–64.
16. Trzaskowski B, Latek D, Yuan S, et al. Action of molecular switches in GPCRs—theoretical and experimental studies. Curr Med Chem. 2012; 19 (8): 1090–109.
17. Kobilka BK. G protein coupled receptor structure and activation. Biochim Biophys Acta - Biomembr. 2007; 1768 (4): 794–807.
18. American Chemical Society. Modern drug discovery. American Chemical Society; 1998.
19. Overington JP, Al-Lazikani B, Hopkins AL. How many drug targets are there? Nat Rev Drug Discov. 2006; 5 (12): 993–6.
20. Kato S. Role of serotonin 5-HT receptors in intestinal inflammation. Biol Pharm Bull. 2013; 36 (9): 1406–9.
21. Renda TG. Vittorio Ersparmer: a true pioneer in the field of bioactive peptides. Peptides. 2000; 21 (11): 1585–6.
22. Introna LD, Wood D. Picturing algorithmic surveillance: The politics of facial recognition systems. Surveill Soc. 2004; 2 (2–3): 177–98.
23. Feldberg W, Toh CC. Distribution of 5-hydroxytryptamine (serotonin, enteramine) in the wall of the digestive tract. J Physiol. 1953; 119 (2–3): 352–62.
24. Twarog BM, Page IH. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. Am J Physiol. 1953; 175 (1): 157–61.
25. Gaddum JH, Picarelli ZP. Two kinds of tryptamine receptor. Br J Pharmacol Chemother. 1957; 12 (3): 323–8.
26. Peroutka SJ, Snyder SH. Multiple serotonin receptors: differential binding of 5-hydroxytryptamine, lysergic acid diethylamide and spiroperidol. Mol Pharmacol. 1979; 16 (3): 687–99.
27. Frazer A, Hensler JG. Serotonin. In: Siegel GJ, eds. Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects. 6th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.
28. Hoyer D. 5-HT receptor nomenclature: naming names, does it matter? A tribute to Maurice Rapport. ACS Chem Neurosci. 2017; 8 (5): 908–19.
29. Aghajanian GK, Marek CJ. Serotonin, via 5-HT2A receptors, increases EPSCs in layer V pyramidal cells of prefrontal cortex by an asynchronous mode of glutamate release. Brain Res. 1999; 825 (1–2): 161–71.
30. Xu T, Pandey SC. Cellular localization of serotonin(2A) (5HT(2A)) receptors in the rat brain. Brain Res Bull. 2000; 51 (6): 499–505.

31. Shukla R, Watakabe A, Yamamori T. mRNA expression profile of serotonin receptor subtypes and distribution of serotonergic terminations in marmoset brain. *Front Neural Circuits*. 2014; 8: 52.
32. Zhang G, Stackman RW, Jr. The role of serotonin 5-HT_{2A} receptors in memory and cognition. *Front Pharmacol*. 2015; 6: 225.
33. Herin DV, Bubar MJ, Seitz PK, et al. Elevated Expression of serotonin 5-HT_{2A} receptors in the rat ventral tegmental area enhances vulnerability to the behavioral effects of cocaine. *Front Psychiatry*. 2013; 4: 2.
34. Nocjar C, Roth BL, Pehek EA. Localization of 5-HT_{2A} receptors on dopamine cells in subnuclei of the midbrain A10 cell group. *Neuroscience*. 2002; 111 (1): 163–76.
35. Geurts FJ, De Schutter E, Timmermans JP. Localization of 5-HT_{2A}, 5-HT₃, 5-HT_{5A} and 5-HT₇ receptor-like immunoreactivity in the rat cerebellum. *J Chem Neuroanat*. 2002; 24 (1): 65–74.
36. Gómez-Gil E, Gastó C, Díaz-Ricart M, et al. Platelet 5-HT_{2A}-receptor-mediated induction of aggregation is not altered in major depression. *Hum Psychopharmacol Clin Exp*. 2002; 17 (8): 419–24.
37. Herr N, Bode C, Duerschmied D. The effects of serotonin in immune cells. *Front Cardiovasc Med*. 2017; 4: 48.
38. Akin D, Manier DH, Sanders-Bush E, et al. Decreased serotonin 5-HT_{2A} receptor-stimulated phosphoinositide signaling in fibroblasts from melancholic depressed patients. *Neuropsychopharmacology*. 2004; 29 (11): 2081–7.
39. Okamoto K, Imbe H, Morikawa Y, et al. 5-HT_{2A} receptor subtype in the peripheral branch of sensory fibers is involved in the potentiation of inflammatory pain in rats. *Pain*. 2002; 99 (1–2): 133–43.
40. Harden TK, Waldo GL, Hicks SN, et al. Mechanism of activation and inactivation of Gq/phospholipase C-B signaling nodes. Vol. 111, *Chemical Reviews*. NIH Public Access; 2011. p. 6120–9.
41. Kurrasch-Orbaugh DM, Parrish JC, Watts VJ, et al. A complex signaling cascade links the serotonin_{2A} receptor to phospholipase A₂ activation: the involvement of MAP kinases. *J Neurochem*. 2003; 86 (4): 980–91.
42. Urban JD, Clarke WP, von Zastrow M, et al. Functional selectivity and classical concepts of quantitative pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006; 320 (1): 1–13.
43. Kurrasch-Orbaugh DM. Serotonin 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor-coupled phospholipase c and phospholipase A₂ signaling pathways have different receptor reserves. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 304 (1): 229–37.
44. Bhattacharyya S, Puri S, Milei R, et al. Internalization and recycling of 5-HT_{2A} receptors activated by serotonin and protein kinase C-mediated mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99 (22): 14470–5.
45. Eison AS, Mullins UL. Regulation of central 5-HT_{2A} receptors: a review of in vivo studies. *Behav Brain Res*. 1996; 73 (1–2): 177–81.
46. Gray JA, Roth BL. Paradoxical trafficking and regulation of 5-HT_{2A} receptors by agonists and antagonists. *Brain Res Bull*. 2001; 56 (5): 441–51.
47. Celada P, Puig M, Amargós-Bosch M, et al. The therapeutic role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in depression. *J Psychiatry Neurosci*. 2004; 29 (4): 252–65.
48. Albizu L, Holloway T, González-Maeso J, et al. Functional crosstalk and heteromerization of serotonin 5-HT_{2A} and dopamine D₂ receptors. *Neuropharmacology*. 2011; 61 (4): 770–7.
49. González-Maeso J, Ang RL, Yuen T, et al. Identification of a serotonin/glutamate receptor complex implicated in psychosis. *Nature*. 2008; 452 (7183): 93–7.
50. Moreno JL, Holloway T, Albizu L, et al. Metabotropic glutamate mGlu₂ receptor is necessary for the pharmacological and behavioral effects induced by hallucinogenic 5-HT_{2A} receptor agonists. *Neurosci Lett*. 2011; 493 (3): 76–9.
51. Gandhimathi A, Sowdhamini R. Molecular modelling of human 5-hydroxytryptamine receptor (5-HT_{2A}) and virtual screening studies towards the identification of agonist and antagonist molecules. *J Biomol Struct Dyn*. 2016; 34 (5): 952–70.
52. Nichols DE. Structure-activity relationships of serotonin 5-HT_{2A} agonists. *Wiley Interdiscip Rev Membr Transp Signal*. 2012; 1 (5): 559–79.
53. Barrett FS, Preller KH, Herdener M, et al. Serotonin 2A receptor signaling underlies LSD-induced alteration of the neural response to dynamic changes in music. *Cereb Cortex*. 2017; 1–12.
54. Kaelin M, Roseman L, Kahan J, et al. LSD modulates music-induced imagery via changes in parahippocampal connectivity. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2016; 26 (7): 1099–109.
55. Passie T, Halpern JH, Stichtenoth DO, et al. The pharmacology of lysergic acid diethylamide: a review. *CNS Neurosci Ther*. 2008; 14 (4): 295–314.
56. Preller KH, Herdener M, Pokorny T, et al. The fabric of meaning and subjective effects in lsd-induced states depend on serotonin 2A receptor activation. *Curr Biol*. 2017; 27 (3): 451–7.
57. De Gregorio D, Comai S, Posa L, et al. d-lysergic acid diethylamide (LSD) as a model of psychosis: mechanism of action and pharmacology. *Int J Mol Sci*. 2016; 17 (11): 1953.

58. Luft B, Taylor D. A review of atypical antipsychotic drugs versus conventional medication in schizophrenia. *Expert Opin Pharmacother*. 2006; 7 (13): 1739–48.
59. Lind CCK, Carchedi CLR, Staudenmeier LJJ, et al. Atypical presentations of atypical antipsychotics. *Psychiatry (Edmont)*. 2005; 2 (6): 32–9.
60. Bitter I, Dossenbach MR, Brook S, et al. Olanzapine versus clozapine in treatment-resistant or treatment-intolerant schizophrenia. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2004; 28 (1): 173–80.
61. Kupfer DJ. The pharmacological management of depression. Vol. 7, *Dialogues in Clinical Neuroscience*. Les Laboratoires Servier; 2005. p. 191–205.
62. Anttila S, Leinonen E. A review of the pharmacological and clinical profile of mirtazapine. *CNS Drug Rev*. 2001; 7 (3): 249–64.
63. Seeman P. Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Can J Psychiatry*. 2002; 47 (1): 27–38.
64. Weston-Green K, Huang X-F, Lian J, et al. Effects of olanzapine on muscarinic M3 receptor binding density in the brain relates to weight gain, plasma insulin and metabolic hormone levels. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2012; 22 (5): 364–73.
65. Flik G, Folgering JHA, Cremers TIHF, et al. Interaction between brain histamine and serotonin, norepinephrine, and dopamine systems: in vivo microdialysis and electrophysiology study. *J Mol Neurosci*. 2015; 56 (2): 320–8.
66. Feuerstein TJ. Presynaptic receptors for dopamine, histamine, and serotonin. In: *Handbook of experimental pharmacology*. 2008. p. 289–338.
67. Segu L, Lecomte MJ, Wolff M, et al. Hyperfunction of muscarinic receptor maintains long-term memory in 5-HT4 receptor knock-out mice. *PLoS One*. 2010; 5 (3): 9529.
68. López-Giménez JF, Vilaró MT, Palacios JM, et al. MDL 100,907 labels 5-HT2A serotonin receptors selectively in primate brain. *Neuropharmacology*. 1998; 37 (9): 1147–58.
69. Chapman ME, Wideman RF. Evaluation of the serotonin receptor blockers ketanserin and methiothepin on the pulmonary hypertensive responses of broilers to intravenously infused serotonin. *Poult Sci*. 2006; 85 (4): 777–86.
70. Pazos A, Probst A, Palacios JM. Serotonin receptors in the human brain–IV. Autoradiographic mapping of serotonin-2 receptors. *Neuroscience*. 1987; 21 (1): 123–39.
71. Ettrup A, Holm S, Hansen M, et al. Preclinical Safety Assessment of the 5-HT2A Receptor Agonist PET Radioligand [¹¹C]Cimbi-36. *Mol Imaging Biol*. 2013; 15 (4): 376–83.
72. Pritchett DB, Bach AW, Wozny M, et al. Structure and functional expression of cloned rat serotonin 5HT-2 receptor. *EMBO J*. 1988; 7 (13): 4135–40.
73. Chee IS, Lee SW, Kim JL, et al. 5-HT2A receptor gene promoter polymorphism -1438A/G and bipolar disorder. *Psychiatr Genet*. 2001; 11 (3): 111–4.
74. Williams J, Spurlock G, McGuffin P, et al. Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. European Multicentre Association Study of Schizophrenia (EMASS) Group. *Lancet (London, England)*. 1996; 347 (9011): 1294–6.
75. Videtic A, Pungercic G, Pajnic IZ, et al. Association study of seven polymorphisms in four serotonin receptor genes on suicide victims. *Am J Med Genet Part B Neuropsychiatr Genet*. 2006; 141 (6): 669–72.
76. De Quervain DF, Henke K, Aerni A, et al. A functional genetic variation of the 5-HT2a receptor affects human memory. *Nat Neurosci*. 2003; 6 (11): 1141–2.
77. Wu K, Chen C, Moyzis RK, et al. Gender interacts with opioid receptor polymorphism A118G and serotonin receptor polymorphism -1438 A/G on speed-dating success. *Hum Nat*. 2016; 27 (3): 244–60.
78. Kling A, Seddighzadeh M, Arlestig L, et al. Genetic variations in the serotonin 5-HT2A receptor gene (HTR2A) are associated with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2008; 67 (8): 1111–5.
79. Arranz M, Collier D, Sodhi M, et al. Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT2A receptor gene. *Lancet (London, England)*. 1995; 346 (8970): 281–2.
80. McMahon FJ, Buervenich S, Charney D, et al. Variation in the gene encoding the serotonin 2A receptor is associated with outcome of antidepressant treatment. *Am J Hum Genet*. 2006; 78 (5): 804–14.
81. Suzuki Y, Sawamura K, Someya T. Polymorphisms in the 5-hydroxytryptamine 2A receptor and cytochrome P4502D6 genes synergistically predict fluvoxamine-induced side effects in Japanese depressed patients. *Neuropsychopharmacology*. 2006; 31 (4): 825–31.
82. Serretti A, Drago A, De Ronchi D. HTR2A gene variants and psychiatric disorders: a review of current literature and selection of SNPs for future studies. *Curr Med Chem*. 2007; 14 (19): 2053–69.
83. Melse M, Tan SKH, Temel Y, et al. Changes in 5-HT2A receptor expression in untreated, de novo patients with Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis*. 2014; 4 (2): 283–7.

84. Rasmussen NB, Olesen MV, Brudek T, et al. 5-HT_{2A} receptor binding in the frontal cortex of Parkinson's disease patients and alpha-synuclein overexpressing mice: a postmortem study. *Parkinsons Dis.* 2016; 2016: 3682936.
85. Lorke DE, Lu G, Cho E, et al. Serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT₆ receptors in the prefrontal cortex of Alzheimer and normal aging patients. *BMC Neurosci.* 2006; 7: 36.
86. Versijpt J, Van Laere KJ, Dumont F, et al. Imaging of the 5-HT_{2A} system: age-, gender-, and Alzheimer's disease-related findings. *Neurobiol Aging.* 24 (4): 553–61.
87. Santhosh L, Estok KM, Vogel RS, et al. Regional distribution and behavioral correlates of 5-HT_{2A} receptors in Alzheimer's disease with [8F]deuteroaltanserine and PET. *Psychiatry Res - Neuroimaging.* 2009; 173 (3): 212–7.
88. Nitsch RM, Deng M, Growdon JH, et al. Serotonin 5-HT_{2a} and 5-HT_{2c} receptors stimulate amyloid precursor protein ectodomain secretion. *J Biol Chem.* 1996; 271 (8): 4188–94.
89. Bagdy G, Kecskemeti V, Riba P, et al. Serotonin and epilepsy. *J Neurochem.* 2007; 100 (4): 857–73.
90. Guiard BP, Di Giovanni G. Central serotonin-2A (5-HT_{2A}) receptor dysfunction in depression and epilepsy: the missing link? *Front Pharmacol.* 2015; 6: 46.
91. Buchanan GF, Murray NM, Hajek MA, et al. Serotonin neurones have anti-convulsant effects and reduce seizure-induced mortality. *J Physiol.* 2014; 592 (19): 4395–410.
92. Matsumoto I, Inoue Y, Iwazaki T, et al. 5-HT_{2A} and muscarinic receptors in schizophrenia: a postmortem study. *Neurosci Lett.* 2005; 379 (3): 164–8.
93. Mita T, Hanada S, Nishino N, et al. Decreased serotonin 5₂ and increased dopamine D₂ receptors in chronic schizophrenics. *Biol Psychiatry.* 1986; 21 (14): 1407–14.
94. Dean B, Hayes W. Decreased frontal cortical serotonin_{2A} receptors in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1996; 21 (3): 133–9.
95. Mintun MA, Sheline YI, Moerlein SM, et al. Decreased hippocampal 5-HT_{2A} receptor binding in major depressive disorder: in vivo measurement with [8F]altanserine positron emission tomography. *Biol Psychiatry.* 2004; 55 (3): 217–24.
96. Rosel P, Arranz B, San L, et al. Altered 5-HT_{2A} binding sites and second messenger inositol trisphosphate (IP₃) levels in hippocampus but not in frontal cortex from depressed suicide victims. *Psychiatry Res - Neuroimaging.* 2000; 99 (3): 173–81.
97. Pandey GN, Dwivedi Y, Rizavi HS, et al. Higher expression of serotonin 5-HT_{2A} receptors in the postmortem brains of teenage suicide victims. *Am J Psychiatry.* 2002; 159 (3): 419–29.
98. Bhagwagar Z, Hinz R, Taylor M, et al. Increased 5-HT_{2A} receptor binding in euthymic, medication-free patients recovered from depression: A positron emission study with [11C]MDL 100,907. *Am J Psychiatry.* 2006; 163 (9): 1580–7.
99. Meyer JH, McMain S, Kennedy SH, et al. Dysfunctional attitudes and 5-HT₂ receptors during depression and self-harm. *Am J Psychiatry.* 2003; 160 (1): 90–9.
100. Nikolaus S, Müller HW, Hautzel H. Different patterns of 5-HT receptor and transporter dysfunction in neuropsychiatric disorders – a comparative analysis of in vivo imaging findings. *Rev Neurosci.* 2016; 27 (1): 27–59.

Tina Bregant¹, Lea Leonardis²

Dihalne funkcije pri bolnikih z amiotrofično lateralno sklerozo

Respiratory Function in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: amiotrofična lateralna skleroza, dihalne funkcije, dihalna podpora, neinvazivna ventilacija, respiratorna fizioterapija

Amiotrofična lateralna skleroza je nevrodegenerativna bolezen, ki primarno prizadene delovanje motoričnega sistema. Zanj je značilna napredujoča mišična oslabelost. Poleg oslabelosti mišic udov in bulbarnih mišic se tekom bolezni razvije šibkost dihalnih mišic, kar vodi v zmanjšano alveolarno ventilacijo in dihalno odpoved, ki je tudi glavni vzrok smrti bolnikov. V prispevku na kratko predstavimo bolezen in opišemo dihalne težave, diagnostično in terapevtsko obravnavo, prav tako pa predstavimo tudi načine predihavanja z bolj podrobnim opisom neinvazivnega predihavanja. Pri bolnikih je ključna skrb za dihalne funkcije. V obravnavo moramo že zgodaj vključiti dihalnega fizioterapevta, s skrbnim spremljanjem dihalnih funkcij, ustrezno uporabo pripomočkov, kot so aparati za neinvazivno predihavanje in izkašljevalniki, pa pri bolnikih izboljšamo kakovost življenja in preživetje.

ABSTRACT

KEY WORDS: amyotrophic lateral sclerosis, respiratory function, respiratory support, noninvasive ventilation, respiratory physiotherapy

Amyotrophic lateral sclerosis is a neurodegenerative disorder primarily affecting the motor system. It is characterized by progressive decrease in muscle strength. In addition to weakness of limb and bulbar muscles, respiratory muscle weakness develops during the course of the disease, leading to a reduced alveolar ventilation and respiratory failure, which is the main cause of death in amyotrophic lateral sclerosis. In the article we present a brief description of the disease itself. Respiratory problems, diagnostics, and therapy are described. We briefly describe different ventilation methods with a detailed description of noninvasive ventilation. In amyotrophic lateral sclerosis patients special attention should be paid to respiratory function. A respiratory physiotherapist should be included early during the disease's course. Special attention to respiratory function and adequate use of equipment such as the noninvasive ventilators and exsufflators improves quality of life and survival in these patients.

¹ Doc. dr. Tina Bregant, dr. med., Univerzitetni rehabilitacijski inštitut Republike Slovenije – Soča, Linhartova cesta 51, 1000 Ljubljana; tina.bregant@siol.net

² Doc. dr. Lea Leonardis, dr. med., Klinični inštitut za klinično nevrofiziologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

UVOD

Bolezni motoričnega nevrona so skupina nevroloških bolezni, za katere sta značilna napredujoč propad in izguba motoričnih nevronov. Med te bolezni spada amiotrofična lateralna skleroza (angl. *amyotrophic lateral sclerosis*, ALS), za katero je značilen propad motoričnih nevronov v možganski skorji, možganskem deblu in hrbtenjači (1–3). Druge bolezni lahko prizadenejo samo zgornje ali samo spodnje motorične nevrone. Mednje sodijo napredujoča mišična atrofija, imenovana tudi progresivna mišična atrofija (PMA), s propadom spodnjih motoričnih nevronov (SMN), primarna lateralna skleroza (PLS) s propadom zgornjih motoričnih nevronov (ZMN) in velika ter raznolika skupina spinalnih mišičnih atrofijs z začetkom v odrasli dobi, ki se razlikujejo tako genetsko kot klinično (4).

AMOTROFIČNA LATERALNA SKLEROZA

Za ALS je značilna napredujoča usahlost mišic z zmanjšano mišično močjo, s fascikulacijami in spastičnostjo (4). Bolezen je prvič opisal Jean Martin Charcot leta 1869 (5). V ZDA je poznana kot bolezen Louja Gehriga (angl. *Lou Gehrig disease*) po slavnem igralcu bejzbola (6).

Bolezen se pojavlja v Evropi z letno incidenco 3/100.000 pri moških in 2,4/100.000 pri ženskah, pri čemer se incidenca po 80. letu zmanjša (7). Prevalenca bolezni je 1/20.000 (1). Tveganje za razvoj bolezni je 1/400 za ženske in 1/350 za moške. Bolezen je 1,5-krat pogostejša pri moških kot pri ženskah. Starost ob začetku sporadičnih oblik ALS je približno 60 let, za genetske oblike bolezni, ki se pojavljajo pri približno 5–10 % bolnikov z ALS, pa deset let prej (2, 7). Sopojavnost bolezni z ostalimi nevrodegenerativnimi obolenji, kot so frontotemporalna demenca, Parkinsonova bolezen in Alzheimerjeva bolezen, nakazuje splošno genetsko dovzetnost za nevrodegenerativne procese (8, 9).

Diagnozo postavi zdravnik nevrolog na podlagi kliničnega pregleda in dodatnih preiskav ob skrbnem sledenju bolnika. Najpogostejše se zanašamo na kombinacijo znakov prizadetosti SMN in ZMN v enem področju, ki napreduje v druga področja (2, 10). Ker za zdaj še nimamo jasnih bioznačevalcev ali diagnostičnih testov za potrditev diagnoze ALS, pri raziskavah stopnjo verjetnosti diagnoze ALS določimo z uporabo kriterijev El Escorial, ki so bili nazadnje posodobljeni leta 1997 (11). Glede na rezultate raziskav so predvsem v primeru bulbarnih oblik ALS klinično zanesljivejši kriteriji Awaji, ki so se začeli razširjeno uporabljati po letu 2012, saj imajo ob enaki specifičnosti višjo senzitivnost (12). Kriteriji El Escorial temeljijo na kliničnih znakih prizadetosti SMN ali ZMN v posameznih telesnih segmentih (v bulbarnem področju, v vratnih, prsnih področjih ali v ledvenem in križnem področju hrbtenjačnih segmentov). Elektromiografski znaki, kot so pozitivni ostri valovi, fibrilacije in fascikulacije, so kot znak prizadetosti SMN vključeni v kriterije le pri verjetni, laboratorijsko podprti diagnozi. Kriteriji Awaji pa upoštevajo prizadetost SMN v posameznem področju ne glede na to, ali gre za klinično najdbo ali za najdbo, ugotovljeno z igelno elektromiografijo. Kriteriji Awaji tako sledijo dejanskemu poteku, pri katerem so nevrofiziološke preiskave del klinične entitete in ne ločena klinična entiteta. Kriteriji Awaji obravnavajo fascikulacijske potenciale z znaki reinervacije kot dokaz okvare SMN, zlasti kadar so zaznani v velikih mišicah udov in mišicah, ki so oživčene z možganskimi živci (13, 14).

Klinična slika

Pri približno dveh tretjinah bolnikov bolezen poteka tipično kot spinalna oblika ALS s področno mišično šibkostjo, ki se lahko začne distalno ali proksimalno v zgornjih ali spodnjih udih. Mišični krči in fascikulacije se pojavijo hkrati, včasih pa celo pred

šibkostjo mišic. Običajno je na začetku prisotna asimetrija v prizadetosti udov, ki pa se kasneje razširi, tako da bolniki razvijejo še dodatno bulbarno simptomatiko in težave z dihanjem.

Bulbarna oblika poteka z dizartrijo, disfagijo in s pretiranim slinjenjem, lahko je prisotna tudi šibkost spodnjega dela obraza. Težave s šibkostjo udov se pojavijo približno eno do dve leti po začetku prvih težav. Najdemo tudi psevdobulbarne znake s čustveno neuravnovešenostjo.

Pri približno 5 % bolnikov z ALS je prisotna dihalna šibkost brez bulbarnih simptomatike ali gibalnih težav (15, 16). Pri teh bolnikih so v ospredju dihalne težave: dispneja, ortopneja in nočna hipoventilacija ter posledično zaspanost preko dneva, motnje spanja, jutranji glavobol, neješčnost, motnje pozornosti in razpoloženja (17).

Ob napredovanju bolezni se razvijejo znaki okvare ZMN in SMN znotraj istega oživilnega področja: v bulbarnem, vratnem, prsnem ali ledvenem predelu. Najbolj pogosta vzroka smrti pri bolnikih z ALS sta dihalna odpoved in pljučni zaplet. Pri bolnikih v končnih razvojnih stopnjah bolezni pride do globoke motorične paralize, t. i. popolnoma vklejenenega stanja (angl. *completely locked-in state*, CLIS), za katerega je značilna paraliza vseh mišic, ki so pod nadzorom volje (18, 19).

Povzetek različnih kliničnih oblik bolezni motoričnega nevrona smo predstavi-

li v tabeli 1. Razumevanje različnih oblik bolezni je ključno pri načrtovanju zdravljenja in oskrbe.

DIHALNE FUNKCIJE PRI BOLNIKI Z AMIOTROFIČNO LATERALNO SKLEROZO

Dihalna šibkost

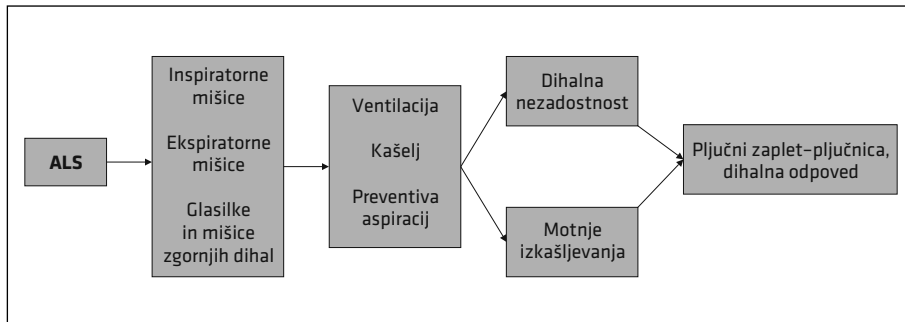
Posledica propada motoričnih nevronov je mišična šibkost, ki prizadene tudi dihalne mišice, kar je glavni vzrok smrti pri tej bolezni (20, 21). Pri bolnikih je ventilacija nezadostna predvsem zaradi oslabelosti dihalnih mišic. Ob bulbarni simptomatiki se pridružijo težave z izkašljevanjem, aspiracijami in s slinjenjem, kar še dodatno poslabša dihalno funkcijo. Na sliki 1 smo grafično prikazali vpliv ALS na dihalne funkcije.

Bolniki navajajo tahipnejo, dispnejo in ortopnejo ter dihalne premore. Pogosto opisujejo nočna prebujanja in občutke nočne dispneje. Preko dneva so utrujeni in zaspani ter imajo jutranje glavobole. Govor je lahko tih, kot bi bil zadihan, zatikajoč in s številnimi premori med besedami. Opazimo lahko živahnejše reflekse na obrazu in spastičnost (vključno s klonusom brade ali laringospazmom), slabšo gibljivost jezika in neba, paradokso trebušno dihanje in uporabo pomožnih dihalnih mišic v mirovanju.

Nočna hipoventilacija, ki po definiciji vključuje nezadostno ventilacijo in posledično hiperkapnijo ter zmanjšano nasičenost krvi s kisikom (angl. *oxygen saturation*,

Tabela 1. Različne oblike bolezni motoričnega nevrona s tipičnim mestom okvare in klinično sliko. ALS – amiotrofična lateralna skleroza, ZMN – zgornji motorični nevron, SMN – spodnji motorični nevron.

Klinična oblika bolezni	Okvara	Tipična klinična slika
Spinalna oblika ALS	ZMN in SMN	Gibalne težave z zgornjimi in spodnjimi udi, s spastičnostjo in oslabelostjo hkrati.
Bulbarna oblika ALS	ZMN in SMN	Dizartrija, disfagija, sialoreja.
Primarna lateralna skleroza	ZMN	Šibkost s hiperrefleksijo, spastičnostjo in klonusom; pozitivna znaka Babinskega in Hoffmana.
Progresivna mišična atrofija	SMN	Oslabelost z mišično atrofijo in fascikulacijami ter šibkimi ali odsotnimi miotatičnimi refleksi.



Slika 1. Grafični prikaz vpliva ALS na dihalne funkcije. Mesto okvare in funkcijska okvara, ki pri ALS zaradi dihalne nezadostnosti in motenj izkašljevanja vodijo do dihalne odpovedi in pljučnega zapleta, ki lahko vodi v smrt. Potek dihalne odpovedi smo prikazali shematično. ALS – amiotrofična lateralna skleroza.

SaO₂), je najpogostejša oblika motenj dihanja, redkeje so hipopneje in apneje (22, 23). Občutek težkega dihanja v nekem obdobju bolezni navaja kar do 85 % bolnikov (24). Nekatere raziskave opisujejo znižan dihalni volumen pri praktično vseh bolnikih že ob postavitvi diagnoze, vendar se podatki med raziskavami razlikujejo (25). V raziskavi, pri kateri so uporabili spirometrijo za objektivni opis stanja, je le ena tretjina bolnikov navajala težave pri dihanju, čeprav so s spirometrijo kar pri 85 % bolnikov odkrili motnje dihanja (26). Simptomi slabe predihanosti in slabši izvidi funkcijskih testov se ne pojavijo vedno sočasno (27).

Pri bolnikih pogosto opazujemo ortopnejo. Šibkost trebušne prepone je bolj izrazita ob ležanju na hrbtu, ko učinek gravitacije ne pomaga pri spustu prepone, zato pride do alveolarne hipoventilacije, hiperkapnije in desaturacije oksihemoglobina (4). Pri bolnikih z napredovalo stopnjo bolezni ALS so poleg hipoventilacije lahko pomemben vzrok zmanjšanja zasičenosti arterijske krvi s kisikom in manjšega delnega tlaka kisika v krvi tudi dihalne pavze oz. premori.

Pojavnost apnej je pri bolnikih z ALS v primerjavi z zdravimi po nekaterih podatkih enaka ali večja (28). V raziskavah ugotavljajo večjo pojavnost tako za mešane apneje in centralne apneje pri bolnikih brez bulbarne prizadetosti kot tudi za obstruk-

tivne apneje pri bulbarnih oblikah bolezni (29, 30). Apneje so najpogostejše v prvem letu po začetku bolezni, kasneje se njihovo število zmanjša, poveča pa se šibkost dihalnih mišic (30). Vzrok je verjetno v šibkosti bulbarnih mišic, ki zgodaj v bolezni povzročijo zaporo dihalni poti in apneje. Kasneje v poteku bolezni je usahlost bulbarnih mišic (predvsem jezika) tako izrazita, da kljub naraščajoči šibkosti ne povzroča več pomembne zožitve. Vendar pa v več raziskavah avtorjem ni uspelo dokazati enoznačne povezave med apnejami in bulbarno prizadetostjo (22, 23).

Dihalna podpora

Bolniki z ALS lahko že zgodaj v začetku bolezni navajajo simptome in znake slabe predihanosti. Najpogostejše navajajo dispnejo ob naporu, ortopnejo in dnevno utrujenost oz. slabši spanec ponoči. Prva simptomata sta tesno povezana s šibkostjo dihalnih mišic, dnevna utrujenost pa je lahko tudi posledica mišične šibkosti ali nočnih apnej. V skrb za bolnika z ALS je zato treba zelo zgodaj vključiti dihalnega terapevta (31).

Pri bolnikih redno opravimo meritve pljučne funkcije. Pri spirometriji merimo vitalno kapaciteto (VK), forsirano vitalno kapaciteto (FVK) in največji volumen izdihane zraka v prvi sekundi forsiranega izdih (angl. *forced expiratory volume in one second*,

FEV₁) ter njuno razmerje – t. i. Tiffenaujev indeks (TI). Uporabljamo tudi izometrični manever z meritvijo največjega tlaka ob vdihu, ki ga uporabljamo kot merilo skupne moči dihalnih mišic ob vdihu. Z meritvijo največjega tlaka ob izdihu izmerimo moč mišic ob izdihu in tako ocenjujemo moč medrebrnih in trebušnih mišic. Pri bolnikih z izjemno oslabljenim bulbarnim mišičjem, ki ne morejo tesniti ustnika za merjenje VK in največjega tlaka ob vdihu, izmerimo tlak ob njuhanju in na ta način ocenimo skupno mišično moč ob vdihu. Tlak ob njuhanju se meri preko posebnega nastavka, ki ga nežno potisnemo v prehodno nosnico, zato je ta meritev še posebno primerna za bolnike z bulbarno simptomatiko. Simptomi in znaki nezadostne predihavnosti, nenormalni rezultati dihalnih funkcijskih testov in plinske analize arterijske krvi ne nastopijo vedno sočasno ali v ustaljenem časovnem zaporedju. Zato ob rednih pregledih bolnikov z napredujočo ALS oz. ob mejnih vrednostih testov vedno poleg dihalnih funkcijskih testov preverjamo tudi plinsko analizo arterijske krvi, s katero ocenimo vrednosti delnega tlaka CO₂ (20, 21).

Mehanska ventilacija ali umetno predihavanje pljuč je metoda, s katero pomagamo bolnikom, ki zaradi različnih vzrokov ne morejo sami zagotoviti zadostne spontane ventilacije (32). Pri umetnem predihavanju s periodičnim prenosom zraka oz. mešanice zraka in kisika med dvema mehanskima sistemoma (med aparatom za dihanje in dihalnim sistemom bolnika) pomagamo izboljšati izmenjavo plinov v pljučih in tako zmanjšamo dihalno delo. Dihalno podporo sproti prilagajamo bolniku. Bolnikom, ki ne zmorejo spontanega dihanja, zagotovimo popolno dihalno podporo z dihalnim volumnom (izbranim glede na ventilator) z določeno frekvenco. Dihalna podpora je lahko minimalna, zlasti pri bolnikih z obstruktivnimi premori dihanja, ki jim zagotovimo stalno pozitiven tlak med celotnim dihalnim ciklom (angl. *continuous positive airway pressure*, CPAP).

Ločimo invazivno in neinvazivno ventilacijo. Invazivne metode zahtevajo umetno dihalno pot: endotrahealni tubus ali kanilo. Med neinvazivne metode sodi neinvazivna mehanska ventilacija, kamor prištevamo tudi CPAP in ventilacijo s podporo dihanju na dveh tlačnih nivojih (angl. *biphasic positive airway pressure*, BiPAP). Ventilacija s CPAP preko dihalnega aparata, cevi in maske bolniku v dihalnih poteh vzdržuje pozitiven zračni tlak, kar preprečuje, da bi se ob izdihu dihalne poti zaprle ali bi se njihova svetlina pomembno zmanjšala. CPAP zmanjša delo, ki bi ga morale dihalne mišice opraviti ob naslednjem vdihu. CPAP uporabljajo predvsem bolniki z obstruktivnimi motnjami dihanja. Uporabljajo ga predvsem ponoči ali med spanjem. Ventilator z nastavitvijo BiPAP ima poleg pozitivnega ekspiratornega tlaka (angl. *expiratory positive airway pressure*, EPAP), ki je podoben CPAP, določen še pozitiven inspiratorni tlak (angl. *inspiratory positive airway pressure*, IPAP). Ob začetku vdaha, ki ga zazna ventilator, z nastavljenim IPAP potisne zrak v bolnikove dihalne poti. S tem zmanjša delo bolnikovih inspiratornih mišic, kar bolniku olajša dihanje. EPAP prepreči kolaps dihalnih poti in na ta način pomaga pri ponovnem vdihu. Ventilator z BiPAP uporabljamo pri restriktivni motnji, ki je pogosta pri bolnikih z živčno-mišičnimi obolenji, kamor sodi tudi ALS.

Pri bolnikih z ALS najpogostejše uporabljamo neinvazivno ventilacijo, sprva ponoči, kasneje tudi podnevi (4). Neinvazivna intermitentna ventilacija s pozitivnim tlakom (angl. *non-invasive positive pressure ventilation*, NIPPV) oz. neinvazivna ventilacija (angl. *non-invasive ventilation*, NIV) omogoča dovajanje zraka preko ust, nosu ali preko kombinacije obojega. Obliko dovajanja zraka izberemo v dogovoru z bolnikom glede na prizadetost dihalnih mišic. Pri bolnikih z nebularnimi oblikami ALS najpogostejše uporabljamo nosno, nosno-ustno ali obrazno masko (slika 2a, slika 2b). Pri

bulbarnih oblikah uporabimo nosno-ustno masko ali obrazno masko (t. i. avatarko), saj le tako lahko predel okoli ust zatesnimo med spanjem. S preprečitvijo vpliva odpiranja ust na dovajanje ali uhajanje zraka tako povečamo učinkovitost (slika 2c). Včasih je pri omenjeni populaciji bolnikov treba razmišljati tudi o uvedbi traheostome oz. kanile. Nosno-ustne maske so praviloma bolj udobne in učinkovite, še posebej, ko so izdelane po meri, česar v Sloveniji ni na voljo. Pri bolnikih z ALS, ki so se privadili na NIV, je preživetje daljše in bolj kakovostno (4). V preteklosti so nekateri bolniki v tujini raje uporabljali neinvazivno ventilacijo z nadzorom tlaka v trebušni votlini (angl. *intermittent abdominal pressure ventilation*, IAPV), pri čemer je elastična zračna vreča všita v korzet, ki je skrit pod obleko in z napihovanjem pomaga pri izdihu. Omenjeni način ni uporaben pri debelih ljudeh in pri tistih z bolj izrazito skoliozo in ga pri nas ne uporabljamo.

Opazovanje, merjenje in beleženje bolnikovih vitalnih funkcij z ustreznimi nastavitvami delovanja ventilatorja je nujno za odkrivanje poslabšanj in zapletov. Pri bolnikih z ALS znižane vrednosti SaO_2 preko noči kažejo na nočno hipoventilacijo ter potrebo po neinvazivni ventilaciji preko noči, pri čemer pa v dovajani zrak ne dodajamo kisika, saj bi s tem lahko odvzeli dihalni dražljaj ter poslabšali hiperkapnijo (4). Hipoksemija je pri bolnikih z ALS posledica neučinkovite ventilacije in ne slabe perfu-

zije, zato pri bolnikih namesto povišanja deleža kisika v vdihanem zraku, povišamo parametre ventilacije. Če pri bolniku z ALS pride do pljučnega zapleta, kot je npr. pljučnica, po ustrezno zagotovljeni zavarovani dihalni poti dodamo kisik in bolnika predihavamo. Poskusimo z NIV in dodatkom kisika, vendar lahko na bolnikovo željo preidemo tudi na invazivno ventilacijo. Invazivna ventilacija je v tem primeru prehodna, dokler ne pride do izboljšanja, ko bolnika lahko premestimo nazaj na NIV. Zavedati se moramo, da nam nekaterih bolnikov kasneje ne bo uspelo zopet uvesti na NIV.

Vloga dihalnega fizioterapevta pri oskrbi bolnika z amiotrofično lateralno sklerozo

V skrb za bolnike z ALS je treba zgodaj vključiti dihalne fizioterapevte. Praviloma pomagajo pri meritvah in učenju uporabe ventilatorja ter izvajajo funkcijske dihalne teste. Bolnike naučijo dihalnih tehnik in izkašljevanja ter vaj za izboljšanje delovanja dihalnih mišic. Dihalni fizioterapevti bolnike naučijo tudi uporabe mehaničnega izkašljevalnika (insuflatorja/eksuflatorja), ki je uporaben pri odstranjevanju sluznih čepov. Bolniki z oslabljenimi inspiratornimi in/ali ekspiratornimi mišicami ne zmorejo ustvariti dovolj visokih tlakov za učinkovit kašelj.

Izkašljevalnik je sestavljen iz aparata, ki tvori tlake, cevi in iz nosno-obrazne maske oz. nastavka za kanilo. Izkašljevalnik



Slika 2. Različne maske, ki jih uporabljamo pri neinvazivni ventilaciji (angl. *non-invasive ventilation*, NIV) (od leve proti desni): nosni maski (A), nosno-ustni maski (B), maski preko celotnega obraza (C). Maske, označene z modro barvo, so ventilatorske in nimajo odprtina za izdih, izdih je omogočen na dihalnem sistemu.

bolniku sprva s povečanim tlakom razpne pljuča, nato pa z nenadnim podtlakom omogoča hiter izdih, kar je podobno naravnemu kašlju. Na ta način bolniku iz pljuč in dihalnih poti odstrani sluz in tujke. Asistirano ročno izkašljevanje je dopolnilo k uporabi izkašljevalnika. Uporaba izkašljevalnika in dihalnih vaj poveča kakovost in podaljša življenje bolnikom z ALS (4).

Dihanje in motnje spanja

Pri nevrodegenerativnih boleznih, kot so Parkinsonova bolezen, multipla sistemska atrofija, dedne ataksije, Alzheimerjeva bolezen in tudi ALS, so motnje spanja pogoste (33). Pri bolnikih z multiplo sistemsko atrofijo in ALS prihaja do izgube nevronov v jedrih možganskega debla in motenega delovanja bulbarnih in mišic prepone, kar vodi v motnje dihanja med spanjem. Pri bolnikih z ALS najpogosteje najdemo šibkost prepone, ki vodi v nočno hipoventilacijo in je povezana s krajšim preživetjem.

Med spanjem s hitrim premikanjem oči (angl. *rapid eye movement*, REM) prihaja do plitkejšega dihanja in zmanjšanja prispevka prsnega koša, kar vodi v zmanjšan dihalni volumen (34). Pri osebah s šibkostjo dihalnih mišic to lahko predstavlja kritično obdobje in kritično nizke volumne, ki jih lahko zaznamo kot žagaste padce SaO₂. Hipoventilacija se lahko iz obdobja REM razmahne v obdobje ne-REM spanca, kar vodi v neprekinjene, stalne desaturacije in hiperkarbijo. Obdobje REM spanca se po navadi skrajša (35). V raziskavah opažajo, da pri bolnikih z ALS prihaja do motenj spanja in

nočnih desaturacij tudi takrat, ko so dihalne funkcije še ohranjene in funkcija prepojne podnevi še dobra (36).

NIV lahko privede do določenih zapletov, kot sta neubranost med bolnikom in ventilatorjem ali uhajanje zraka. Bolniki se ob težavah z ventilatorjem lahko prebujajo, kar ruši arhitekturo spanca. Pri bolnikih, ki NIV ne prenašajo, je treba najprej preveriti in ustrezno prilagoditi parametre, npr. hitrost vpiha. Če razloga za neučinkovito NIV ne najdemo, je smiselno opraviti še polisomnografijo (34, 37).

Raziskave kažejo, da NIV podaljša obdobje spanja v fazi globokega spanca, v kateri prevladujejo počasni valovi – N3 in fazo REM. Ob uporabi NIV se izboljša izmenjava plinov, manj je prebujanj, zlasti pri bolnikih z ALS z minimalno bulbarno simptomatiko (37). Tudi bolniki z izrazito bulbarno simptomatiko in brez objektivnega izboljšanja poročajo o izboljšani kakovosti življenja in spanca. Nadzorovana in bolniku ustrezno prilagojena uporaba NIV je ključna pri zagotovitvi dobre oskrbe bolnikov z ALS.

ZAKLJUČEK

S člankom smo želeli opozoriti na bolnike z ALS z dihalnimi težavami. Zavedanje, da nezadostna ali neustrezna dihalna podpora pomembno vpliva na njihovo kakovost življenja, lahko spremeni naš odnos do obravnave bolnikov z ALS, da se za uporabo dihalne podpore odločimo hitreje in bolj utemeljeno.

LITERATURA

1. Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2009; 4: 3.
2. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*. 2011; 377 (9769): 942–55.
3. Majmudar S, Wu J, Paganoni S. Rehabilitation in amyotrophic lateral sclerosis: why it matters. *Muscle Nerve*. 2014; 50 (1): 4–13.
4. Kedlaya D. Amyotrophic lateral sclerosis in physical medicine and rehabilitation. Medscape, Emedicine [internet]. 2015 [citirano 2018 Apr 30]. Dostopno na: <http://emedicine.medscape.com/article/306543-overview#a1>
5. Charcot JM, Joffroy A. Deux cas d'atrophie musculaire progressive avec lésions de la substance grise et de faisceaux antérolatéraux de la moelle épinière. *Arch Physiol Norm Pathol*. 1869; 354–67.
6. National institute of neurological disorders and stroke [internet]. Amyotrophic Lateral sclerosis (ALS) Fact Sheet. 2013 [citirano 2018 Apr 30] NIH Publication No. 13-916. Dostopno na: http://www.ninds.nih.gov/disorders/amyotrophiclateralsclerosis/detail_ALS.htm
7. Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, et al. Incidence of amyotrophic lateral sclerosis in Europe. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010; 81 (4): 385–90.
8. Longinetti E, Mariosa D, Larsson H, et al. Neurodegenerative and psychiatric diseases among families with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*. 2017; 89(6): 578–85.
9. Fallis BA, Hardiman O. Aggregation of neurodegenerative disease in ALS kindreds. *Amyotroph Lateral Scler*. 2009; 10 (2): 95–8.
10. Brooks BR. El Escorial World federation of neurology criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. Subcommittee on motor neuron diseases/amyotrophic lateral sclerosis of the World Federation of Neurology research group on neuromuscular diseases and the El Escorial «Clinical limits of amyotrophic lateral sclerosis» workshop contributors. *J Neurol Sci*. 1994; 24 Suppl: 96–107.
11. Miller RG, Munsat TL, Swash M, et al. Consensus guidelines for the design and implementation of clinical trials in ALS. World Federation of Neurology committee on Research. *J Neurol Sci*. 1999; 169 (1–2): 2–12.
12. Costa J, Swash M, de Carvalho M. Awaji criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. A Systematic Review. *Arch Neurol*. 2012; 69 (11): 1410–6.
13. de Carvalho M, Dengler R, Eisen A, et al. Electrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS. *Clin Neurophysiol*. 2008; 119 (3): 497–503.
14. Schrooten M, Smetcoren C, Robberecht W, et al. Benefit of the Awaji diagnostic algorithm for amyotrophic lateral sclerosis: a prospective study. *Ann Neurol*. 2011; 70 (1): 79–83.
15. de Carvalho M, Matias T, Coelho F, et al. Motor neuron disease presenting with respiratory failure. *J Neurol Sci*. 1996; 139: 117–22.
16. Chen R, Grand'Maison F, Strong MJ, et al. Motor neuron disease presenting as acute respiratory failure: a clinical and pathological study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996; 60 (4): 455–8.
17. Polkey MI, Lyall RA, Moxham J, et al. Respiratory aspects of neurological disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999; 66 (1): 5–15.
18. Kobayashi M, Ikeda K, Kinoshita M, et al. Amyotrophic lateral sclerosis with supranuclear ophthalmoplegia and rigidity. *Neurol Res*. 1999; 21 (7): 661–4.
19. Hayashi H, Kato S. Total manifestations of amyotrophic lateral sclerosis: ALS in the totally locked-in state. *J Neurol Sci*. 1989; 93 (1): 19–35.
20. Spataro R, Lo Re M, Piccoli T, et al. Causes and place of death in Italian patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 2010; 122 (3): 217–23.
21. Howard RS, Orrell RW. Management of motor neurone disease. *Postgrad Med J*. 2002; 78 (926): 736–41.
22. Perrin C, D'Ambrosio C, White A, et al. Sleep in restrictive and neuromuscular respiratory disorders. *Semin Respir Crit Care Med*. 2005; 26 (1): 117–30.
23. Culebras A. Sleep and neuromuscular disorders. *Neurol Clin*. 2005; 23: 1209–23.
24. Oliver D. The quality of care and symptom control – the effects on the terminal phase of ALS/MND. *J Neurol Sci*. 1996; 139 Suppl 1: 134–6.
25. Fallat RJ, Jewitt B, Bass M, et al. Spirometry in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol*. 1979; 36 (2): 74–80.
26. Singh D, Verma R, Garg RK, et al. Assessment of respiratory functions by spirometry and phrenic nerve studies in patients of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*. 2011; 306 (1–2): 76–81.
27. Leonardis L, Dolenc Groselj L, Vidmar G. Factors related to respiration influencing survival and respiratory function in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a retrospective study. *Eur J Neurol* 2012; 19 (12): 1518–24.

28. Leonardis L. Motnje dihanja med spanjem pri bolnikih z živčnomišičnimi boleznimi: doktorska naloga [doktorsko delo]. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani; 2013.
29. Atalaia A, De Carvalho M, Evangelista T, et al. Sleep characteristics of amyotrophic lateral sclerosis in patients with preserved diaphragmatic function. *Amyotroph Lateral Scler.* 2007; 8 (2): 101–5.
30. Santos C, Braghiroli A, Mazzini L, et al. Sleep-related breathing disorders in amyotrophic lateral sclerosis. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2003; 59 (2): 160–5.
31. Mahajan KR, Bach JR, Saporito L, et al. Diaphragm pacing and noninvasive respiratory management of amyotrophic lateral sclerosis/motor neuron disease. *Muscle Nerve.* 2012; 46 (6): 851–5.
32. Cerović O. Nadzor med mehansko ventilacijo. Šola intenzivne medicine. Novo Mesto: Slovensko združenje za intenzivno medicino; 2009. p. 95–105.
33. Gaig C, Iranzo A. Sleep-disordered breathing in neurodegenerative diseases. *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 2012; 12 (2): 205–17.
34. Aboussouan LS. Sleep-disordered breathing in neuromuscular disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015; 191 (9): 979–89.
35. Arnulf I, Similowski T, Salachas F, et al. Sleep disorders and diaphragmatic function in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161 (3 Pt 1): 849–56.
36. Atalaia A, De Carvalho M, Evangelista T, et al. Sleep characteristics of amyotrophic lateral sclerosis in patients with preserved diaphragmatic function. *Amyotroph Lateral Scler.* 2007; 8 (2): 101–5.
37. Vrijsen B, Buyse B, Belge C, et al. Noninvasive ventilation improves sleep in amyotrophic lateral sclerosis: a prospective polysomnographic study. *J Clin Sleep Med.* 2015; 11 (5): 559–66.

Prispelo 15. 5. 2018

Eva Paradiž¹, Maša Skelin Klemen², Andraž Stožer³

Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : sprožilna in presnovna ojačitvena pot

Stimulus Secretion Coupling in Pancreatic β Cells: the Triggering and the Metabolic Amplifying Pathway

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: celica β , izločanje inzulina, sprožitev, presnovna ojačitev, glukoza, aminokisline, proste maščobne kisline

V celicah β je spodbujanje s presnovnimi, hormonskimi, živčnimi in farmakološkimi dejavniki sklopljeno z izločanjem inzulina preko treh različnih med seboj prepletenih znotrajceličnih signalnih poti. Po več kot 40 letih intenzivnih raziskav je daleč najbolj raziskana t. i. sprožilna pot izločanja inzulina, ki se prične z vstopom glukoze v celico β in njeno presnovo, pri čemer nastaja ATP. Slednji je ključen za zapiranje od ATP odvisnih K^+ -kanalov, čemur sledi depolarizacija celične membrane, odpiranje napetostno odvisnih Ca^{2+} -kanalov in oscilatorni porast citosolne koncentracije Ca^{2+} , ki sproži eksocitozo sekretornih mešičkov z inzulinom. Opisana sprožilna pot izločanja inzulina je nujna, a ne zelo učinkovita brez presnovne in nevrohormonske ojačitvene poti, ki vplivata predvsem na občutljivost sekretornega aparata na citosolne ione Ca^{2+} . Sestavek o sklopitvi med spodbujanjem in izločanjem v celicah β smo razdelili na dva dela. V tem prispevku bomo podrobneje opisali tako sprožilno pot izločanja inzulina kot tudi mehanizme presnovne ojačitve z glukozo in drugimi hranili, kot so aminokisline in proste maščobne kisline. Opis nevrohormonske ojačitvene poti je predstavljen v posebnem članku z naslovom Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : nevrohormonska ojačitvena pot.

ABSTRACT

KEY WORDS: β cell, insulin secretion, triggering, metabolic amplification, glucose, amino acids, free fatty acids

In pancreatic β cells, stimulation by metabolic, hormonal, neuronal, and pharmacological factors is coupled to insulin secretion through different interconnected intracellular signalling pathways. After more than forty years of intensive research, the so-called

¹ Asist. Eva Paradiž, dr. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor; eva.paradiz1@um.si

² Doc. dr. Maša Skelin Klemen, dr. vet. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor

³ Izr. prof. dr. Andraž Stožer, dr. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor

triggering pathway of insulin secretion is by far the most investigated. It comprises several steps, the first of which is the influx of glucose and its metabolism, resulting in an increase in cytosolic ATP. The latter is crucial for the closure of ATP-dependent K^+ channels, which leads to cell membrane depolarization and opening of voltage-dependent Ca^{2+} channels. This is then followed by an oscillatory increase in cytosolic Ca^{2+} concentration, triggering exocytosis of insulin-containing granules. The described triggering pathway of insulin secretion is essential, but not very efficient without the so-called metabolic and neurohormonal amplifying pathways, which mainly affect the sensitivity of the secretory machinery to cytosolic Ca^{2+} . We present the stimulus-secretion coupling in pancreatic β cells in two articles. In this article, we describe the triggering pathway of insulin secretion, as well as the mechanisms of metabolic amplification by glucose and other nutrients, such as amino acids and free fatty acids. The neurohormonal amplifying pathway will be described in the following article, titled Stimulus-Secretion Coupling in Pancreatic β Cells: the Neurohormonal Amplifying Pathway.

UVOD IN TAKSONOMIJA POTI DO IZLOČANJA INZULINA

V homeostazi glukoze celice β trebušne slinavke delujejo kot senzor, ki se na porast koncentracije glukoze v krvi odzove s povečanim izločanjem inzulina. Prekomerno izločanje inzulina lahko povzroči življenjsko nevarno hipoglikemijo, medtem ko dolgotrajno nezadostno izločanje privede do nenadnih in kroničnih zapletov, povezanih s sladkorno boleznijo (1). Natančno uravnavanje koncentracije glukoze preko izločanja inzulina je za zdravje posameznika ključnega pomena, na kar kaže tudi sigmoidna oblika krivulje odvisnosti količine izločenega inzulina od koncentracije glukoze, ki je najstrmejša v področju fiziološke koncentracije glukoze, 5–8 mmol/l (2). Čeprav glukoza za celice β predstavlja primarni in najpomembnejši dražljaj, so v fizioloških razmerah celice izpostavljene zapleteni mešanici hranil, številnim hormonom in živčnim prenašalcem, ki preko prepleteneh znotrajceličnih signalnih poti sodelujejo pri uravnavanju njihovih odzivov na to heterogeno spodbujanje (3). Presnova glukoze ima poglavitno vlogo pri nastajanju t. i. sprožilnega (angl. *triggering*) signala, kar večina literature s področja opredeljuje kot porast citosolne koncentra-

cije Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_c$). Dvig $[Ca^{2+}]_c$ je ključni dogodek, ki v celici β sproži eksocitozo sekretornih mešičkov (4). Čeprav govorimo o citosolnem porastu $[Ca^{2+}]$, raziskave kažejo, da globalni porast $[Ca^{2+}]$ na ravni cele celice ni tako bistven kot lokalni dvigi koncentracije v omejenih področjih, kot je npr. predel subplazmaleme ob notranjem ustju Ca^{2+} -kanalov. Večjo gostoto teh kanalov najdemo na celični membrani v bližini sekretornih mešičkov z inzulinom, kar omogoča, da porast koncentracije $[Ca^{2+}]$ v določenih omejenih področjih po odprtju kanalov deluje neposredno na sekretorni aparat.

Druga hranila, hormoni in živčni prenašalci lahko delujejo preko mehanizmov, ki $[Ca^{2+}]_c$ ne spreminjajo neposredno, ampak delujejo v signalni kaskadi izločanja inzulina pozneje od tega koraka, predvsem preko povečanja občutljivosti sekretornega aparata na porast $[Ca^{2+}]_c$. Tudi pri presnovi glukoze nastajajo številne signalne molekule, ki pomembno vplivajo na izločanje inzulina, ne da bi (dodatno) spremenile $[Ca^{2+}]_c$ (1). Opisane dodatne poti uravnavanja izločanja inzulina opredelimo kot presnovno ojačitveno (angl. *amplifying*) pot, kadar govorimo o glukozi in drugih hranilih, oz. kot nevrohormonsko ojačitev, kadar na celico β delujejo živčni prenašalci in hor-

moni. Proces dodatno zaplete dejstvo, da lahko tudi posamezne učinkovine iz t.i. ojačitvene skupine povzročijo porast $[Ca^{2+}]_c$ in tako prispevajo k sprožilnemu signalu. Ta porast je večinoma minimalen in brez sočasnega delovanja glukoze pri izločanju inzulina sam po sebi neučinkovit oz. nezadosten (5). Alternativni način razvrščanja učinkovin je delitev na sprožilce, ki lahko samostojno sprožijo izločanje inzulina, in ojačevalce, ki povečajo izločanje inzulina, a za svoj učinek potrebujejo prisotnost sprožilca. V skupino prvih poleg glukoze uvrščamo še aminokislino levcin in arginin ter nekatere farmakološke učinkovine (sulfonilsečnine), pod druge pa večino preostalih aminokislin (AK), proste maščobne kisline (PMK), hormone in živčne prenašalce (6). Ključni mehanizmi, preko katerih v članku predstavljene učinkovine vplivajo na izločanje inzulina, so grafično prikazani na sliki 1. Ta naj bralcu olajša sledenje opisanim kompleksnim potem, ki so med seboj pogosto tudi prepletene.

SPROŽILNA POT

Sprožilna pot je najboljše raziskana in v znanstveni skupnosti sprejeta pot do izločanja inzulina, ki se prične z vstopom glukoze v celico β preko membransko vezanih prenašalcev. Pri človeku so v večji meri izraženi predvsem glukozni prenašalci (angl. *glucose transporters*, GLUT) tipov 1 in 3, preko katerih je vstop glukoze v celico hiter in sorazmeren koncentraciji glukoze v krvnem obtoku (7). Sledi prvi korak glikolize, tj. fosforilacija glukoze preko encima glukokinaza (heksokinaza IV), kar predstavlja omejujoči korak z vidika hitrosti presnove. Pri tem velja omeniti dve ključni lastnosti glukokinaze, po katerih se razlikuje od drugih izoenzimov iz družine heksokinaz in ki celici β omogoča ustrezno izločanje inzulina (8):

- nizka afiniteta za glukozo ($K_m \approx 6\text{--}11\text{ mmol/l}$), kar preprečuje neustrezno izločanje inzulina pri nizkih vrednostih glukoze in

- odsotnost zaviranja encima s produktom glukoza-6-fosfatom, kar bi sicer ob visokih koncentracijah glukoze povzročilo zasičenje reakcije in s tem preprečilo nadaljnje izločanje inzulina.

Mutacije glukokinaze so tudi klinično pomembne in vodijo do razvoja trajnega neonatalnega diabetesa ali zrelostne oblike diabetesa pri mladih (angl. *maturity onset diabetes of the young*, MODY) v primeru zmanjšane aktivnosti encima, v primeru aktivirajoče mutacije pa do hiperinzulinemije v otroški dobi (9).

Celice β imajo razvite mehanizme, ki omogočajo, da piruvat kot produkt glikolize praktično v celoti prehaja v mitohondrij, kjer vstopa v Krebsov cikel oz. cikel citronske kisline (CCK). Nizka stopnja izražnosti encima laktat dehidrogenaze in monokarboksilatnega prenašalca preprečuje, da bi laktat, ki se sprošča ob telesni aktivnosti, v celici β po pretvorbi v piruvat sprožil neustrezno izločanje inzulina. Končni produkt CCK in oksidativne fosforilacije je ATP (10, 11).

Od ATP odvisni K^+ -kanali (kanali K_{ATP}) so membranski kanali, sestavljeni iz štirih transmembranskih podenot Kir6.2 (angl. *inward-rectifier potassium channel*) in štirih regulatornih podenot sulfonilsečninskega receptorja tipa 1 (angl. *sulfonylurea receptor type 1*, SUR1). Ob porastu koncentracije glukoze se poveča hitrost presnove v celicah β , kar se kaže kot porast citosolne koncentracije ATP. Vezava ATP na podenoto Kir6.2 zmanjša verjetnost odprtja kanalov K_{ATP} , kar zmanjša tok ionov K^+ iz celice in privede do depolarizacije celične membrane. Ko membranski potencial doseže kritično vrednost, se poveča verjetnost odpiranja napetostno odvisnih Ca^{2+} -kanalov (angl. *voltage dependent Ca^{2+} channels*, VDCC), posledično poraste $[Ca^{2+}]_c$, to pa predstavlja ključni sprožilni signal za izločanje sekretornih mešičkov z inulinom (12). Pomemben, a pogosto spregledan, del k porastu

$[Ca^{2+}]_c$ prispeva sproščanje Ca^{2+} iz znotraj-celičnih zalog. Gre za s Ca^{2+} sproženo izločanje Ca^{2+} (angl. *calcium induced calcium release*, CICR) ob aktivaciji rianodinskih receptorjev in receptorjev za inozitol 1,4,5-trisfosfat (angl. *inositol 1,4,5-trisphosphate*, IP_3) na endoplazemskem retikulumu. CICR poteka v obliki lokalnih, omejenih porastov $[Ca^{2+}]_c$, imenovanih tudi iskrice (angl. *Ca^{2+} sparks*), katerih znotrajcelična lokalizacija verjetno ključno vpliva na njihovo funkcijo. Tako poleg usmerjenega vpliva na izločanje sekretornih mešičkov nekateri raziskovalci predlagajo tudi možnost vpliva CICR na aktivacijo od Ca^{2+} odvisnih K^+ -kanalov in s tem repolarizacijo celice. CICR pa pomembno prispeva k nastanku sprožilnega signala, ko je v glukozi izpostavljeni celici hkrati tudi povišana koncentracija c-AMP (več v članku z naslovom Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : nevrohormonska ojačitvena pot) (13).

Kanali K_{ATP} so tudi tarča za delovanje zdravil iz skupine sulfonilsečnin, ki preko vezave na podenoto SUR1 posnemajo delovanje glukoze (14, 15). Elektrofiziološke raziskave celic β opozarjajo, da zaprtje kanalov K_{ATP} samo po sebi ne zadošča za pomik membranskega potenciala, ki bi povzročil aktivacijo napetostno odvisnih Ca^{2+} -kanalov. Povzroči pa povečanje membranske upornosti, ki omogoča, da se izrazi učinek depolarizirajočih tokov iz ozadja (angl. *background currents*), katerih identiteta ni povsem jasna, verjetno pa k tem tokovom prispevajo tudi predstavniki široke skupine kationskih kanalov prehodnega receptorskega potenciala (angl. *transient receptor potential*, TRP) (6, 15, 16). Vloga nekaterih med njimi pri normalnem izločanju inzulina in vpletenost v patogenezo sladkorne bolezni je delno že opisana (17, 18).

PRESNOVNA OJAČITVENA POT GLUKOZE

Zgoraj opisana sprožilna pot je prepozna-na kot ključna za sklopitev spodbujanja in

izločanja v celicah β , a dogajanja v celicah ne zajame v celoti. Izkazalo se je, da glukoza poveča izločanje inzulina tudi kadar zaobidemo kanale K_{ATP} , npr. kadar z diazoksidom preprečimo zaprtje kanalov K_{ATP} in ob prisotnosti povišane zunajcelične koncentracije K^+ celico depolariziramo ali kadar so kanali K_{ATP} zaradi vezave sulfonilsečnin zaprti oz. zaradi odsotnosti gena povsem odsotni (1). To kaže na prisotnost dodatne (presnovne) ojačitvene poti, ki predvsem poveča občutljivost sekretornega aparata na dvig $[Ca^{2+}]_c$ in brez katere je sekretorni odziv na glukozo zmanjšan za približno polovico (1, 15). Presnovna ojačitvena pot je pomembna pri obeh delih sicer dvofaznega izločanja inzulina, obstaja pa med obema potema jasna hierarhija, v kateri je ojačitvena pot podrejena sprožilni (5). Prva je namreč lahko aktivna že pri podpraznih vrednostih glukoze, ki ne zadostujejo za električno aktivnost celic, a se funkcionalno ne izrazi, dokler ni prisoten sprožilni signal (1, 19). Aktivnost ojačitvene poti v bazalnih pogojih bi lahko bila pomembna za vzdrževanje zadostne zaloge sekretornih mešičkov z inulinom ob celični membrani, ki so pripravljene na izločanje (angl. *readily releasable pool*, RRP), s čimer vpliva na amplitudo sekretornega odziva v prvi in drugi fazi izločanja inzulina (19). Dvofaznega izločanja inzulina, ki ga zaznamo v eksperimentalnih pogojih ob stopničastem dvigu koncentracije glukoze, sicer v fizioloških razmerah, ko koncentracija glukoze v krvnem obtoku po obroku narašča postopoma, ne zaznamo. Zaradi zmanjšanja prve faze v obdobju predstopnje sladkorne bolezni in skorajšnjega izginotja ob nastopu sladkorne bolezni tipa 2, pa je pojav koristen pri raziskovanju razvoja bolezni in zaznavanju njenih zgodnejših oblik. Okvara presnovne ojačitvene poti zgodaj v poteku sladkorne bolezni tipa 2 tako morda lahko zmanjša bazen sekretornih mešičkov ki so pripravljeni na izločanje, kar lahko zaznamo kot okrnjeno prvo fazo izločanja inzulina (19, 20).

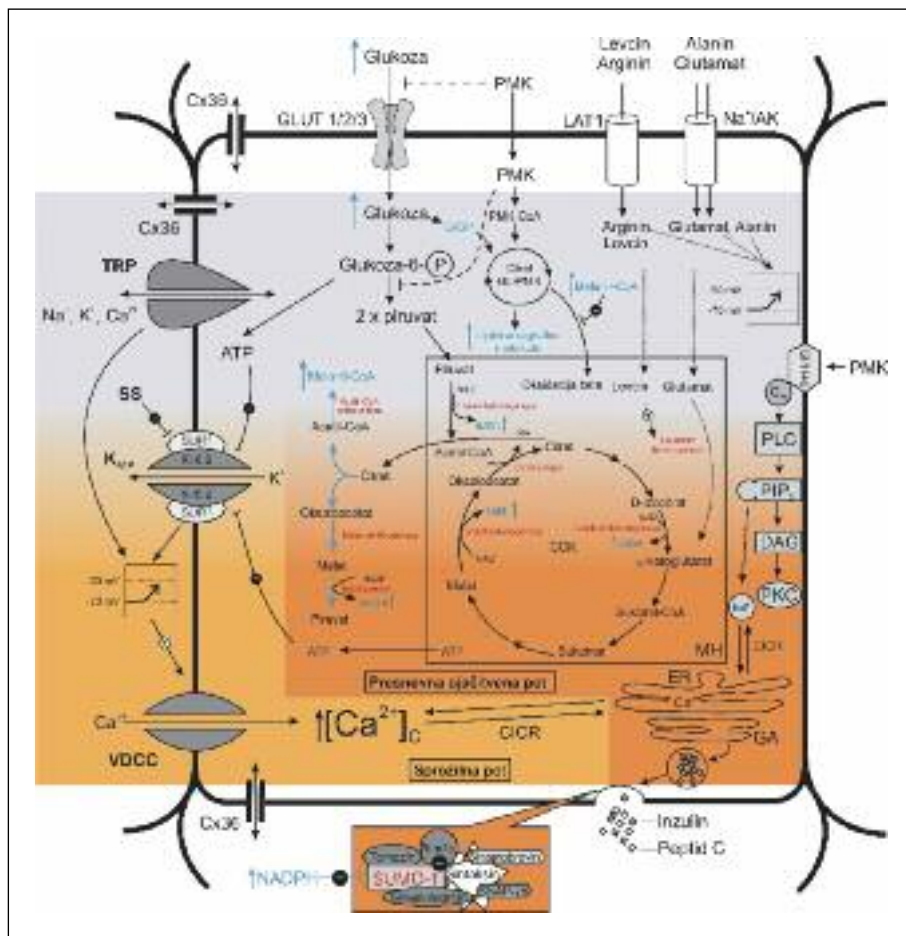
Mehanizmi presnovne ojačitve

Aktivacija ojačitvene poti z glukozo zahteva njeno presnovo (11). Anapleroza označuje reakcije obnavljanja vmesnih produktov presnovnih poti, ki se sicer tekom presnove porabljajo in ki torej omogočajo nemoteno delovanje ključnih presnovnih ciklov, predvsem CCK. Primera tega sta nastanek oksaloacetata iz piruvata ali pretvorba glutamata v α -ketoglutarat. Pri kataplerozi gre za obraten proces prehajanja teh intermediarnih produktov iz mitohondrija v citosol, s čimer se preprečuje njihovo prekomerno kopičenje, hkrati pa se s tem omogoči njihova uporaba v drugih biosintetskih poteh. Tako se npr. citrat po prehodu v citosol porablja za sintezo malonil-CoA (angl. *malonyl-Coenzyme-A*) (21). Širok nabor intermediarnih produktov in kofaktorjev, ki nastajajo tekom presnove glukoze ter drugih hranil, s skupnim imenom imenujemo presnovni sklopitveni dejavniki. Glede na njihov vpliv na izločanje inzulina jih delimo na regulatorje, ki širše in posredno vplivajo na presnovne poti, ter na efektorje, ki neposredno sodelujejo pri ojačitveni in sprožilni poti do izločanja inzulina (2). Kot možne kandidate so preučevali številne snovi, med drugim citrat, malonil-CoA, glutamat, GTP, monoacilglicerol (MAG), ATP, cAMP, beljakovine citoskeleta in številne druge. Vloga in mehanizem delovanja nekaterih izmed njih sta precej jasno raziskana in dobro sprejeta (npr. ATP, cAMP), medtem ko pri drugih kandidatih ostaja več nejasnosti glede njihovega vpliva na izločanje inzulina (21, 22).

Kot eden pomembnejših dejavnikov se v zadnjih letih izpostavlja vpliv reducirane oblike nikotinamid adenin dinukleotid fosfata (angl. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*, NADPH) na eksocitozo. Proces vključuje obliko posttranslacijske modifikacije beljakovin, t. i. sumoilacijo, pri kateri vezava beljakovin majhnih ubikvitinu podobnih modifikatorjev (angl. *small ubiquitin-like modifier* 1, SUMO-1) na sinaptotagmin VII,

sintaksin 1A, RIM1 α (angl. *Rab3-interacting molecule 1a*), tomozin in druge beljakovine, vključene v proces eksocitoze, ovira njihovo delovanje in s tem zavira izločanje inzulina (19, 23). Ob porastu koncentracije glukoze se poveča aktivnost encimov, ki sodelujejo pri njeni presnovi, med drugimi tudi izocitrat dehidrogenaze in malat dehidrogenaze, kar poveča nastanek NADPH kot stranskega produkta. NADPH poveča aktivacijo sentrin/SUMO specifične proteaze (angl. *sentrin-specific protease 1*, SENP1), ki učinkom sumoilacije nasprotuje ter tako spodbuja izločanje inzulina (24). Skladno s tem je oslabljeni ojačitveni učinek glukoze na eksocitozo pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa 2 možno izboljšati preko aktivacije SENP1, hkrati pa imajo miši z delecijo gena *Senp1* zmanjšano glukozno toleranco (25).

Druga pomembnejša pot, preko katere glukoza neodvisno od vpliva na električno aktivnost poveča izločanje inzulina, je povečan nastanek malonil-CoA preko acetil-CoA karboksilaze, ki zavira karnitin palmitoil-transferazo-1 (angl. *carnitine palmitoyltransferase I*, CPT-1), encim, ključen pri oksidaciji dolgoverižnih β -maščobnih kislin. Zaviranje aktivnosti CPT-1 prepreči vstop dolgoverižnega acil-CoA v mitohondrij ter poveča aktivnost cikla glicerolipidi/proste maščobne kisline (angl. *glycerolipid/free fatty acid*, GL/FFA) (26). Glukoza poveča aktivnost omenjenega cikla tudi preko sinteze glicerol-3-fosfata, njegova aktivnost pa poveča sintezo maščobnih signalnih molekul, ki povečajo izločanje inzulina (27). Primer je MAG, ki preko beljakovine Munc13-1 (angl. *protein unc-13 homolog A*) spodbuja pravo (angl. *priming*) sekretornih mešičkov z inzulinom na zlivanje s celično membrano (19, 28). Opisan cikel predstavlja pomembno stičišče med presnovo glukoze in maščob, motnje v njegovem uravnavanju pa prispevajo tudi k razvoju sladkorne bolezni tipa 2 (29).



Slika 1. Povezave med sprožilno in presnovno ojačitveno potjo v celici β . Glukoza se po vstopu preko glukoznih prenašalcev (angl. *glucose transporters*, GLUT) tipa 1, 2 ali 3 (tip 2 je najverjetneje količinsko najpomembnejši pri miših) presnovi v procesu glikolize do piruvata, ki vstopi v cikel citronske kisline (CCK, imenovan tudi Krebsov cikel ali cikel trikarboksilnih kislin) v mitohondriju (MH), kjer nastane ATP. Ta zapre od ATP odvisne K^+ -kanale (kanali K_{ATP}), sledi depolarizacija membrane in odpiranje napetostno odvisnih Ca^{2+} -kanalov (angl. *voltage dependent Ca^{2+} channels*, VDCC). Zvišana znotrajcelična koncentracija Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) je glavni dražljaj za eksocitozo sekretornih mešičkov z inzulinom. Poleg opisane sprožilne poti izločanja inzulina (rumena barva), lahko tako sama glukoza kot tudi aminokisline (AK) in proste maščobne kisline (PMK) dodatno uravnavajo izločanje inzulina preko presnovne ojačitvene poti (oranžna barva). Modra barva označuje učinke visoke koncentracije glukoze v krvi. Minus (-) pomeni zaviranje, plus (+) pa spodbujanje. Za podrobnejšo razlago glejte besedilo. Cx36 – presledkovni stik, ki ga tvori beljakovina koneksin 36 (angl. *connexin 36*), LAT1 – aminokislinski prenašalec tipa L (angl. *large neutral amino acid transporter*), TRP – kanal prehodnega receptorskega potenciala (angl. *transient receptor potential*), GLIP – glicerol-3-fosfat (angl. *glycerol-3-phosphate*), GL – glicerolipidi, SS – sulfonilsečnine, SUR1 – sulfonilsečninski receptor (angl. *sulfonylurea receptor*), ki je regulatorna enota K^+ -kanalov (angl. *sulfonylurea receptor type 1*), Kir6.2 – transmembranska podenota od ATP odvisnih K^+ -kanalov, NAD⁺ – nikotinamid adenin dinukleotid, NADPH – reducirana oblika nikotinamid adenin dinukleotid fosfata, GPR40 – z beljakovino G povezan receptor 40 (angl. *G-protein-coupled receptor 40*), G α_q – podenota α beljakovine Gq, PLC – fosfolipaza C (angl. *phospholipase C*), PIP₂ – fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat (angl. *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*) DAG – diacilglicerol, PKC – proteinska kinaza C, IP₃ – inozitol 1,4,5-trisfosfat (angl. *inositol 1,4,5-trisphosphate*), CICR – s Ca^{2+} sproženo izločanje Ca^{2+} (angl. *calcium-induced calcium release*), ER – endoplazemski retikulum, GA – Golgijev aparat, SUMO-1 – majhni ubikvitinu podobni modifikator 1 (angl. *small ubiquitin-like modifier 1*).

DRUGA HRANILA

Aminoksiline

Privzem AK v celico β večinoma povzroči majhen v celico usmerjen tok pozitivnih ionov, ki pa v odsotnosti glukoze ne povzroči večje spremembe membranskega potenciala. Količinsko se inzulinotropen učinek posameznih AK in njihovih kombinacij razlikuje, za večino pa je značilno, da ob hkratnem zaužitju glukoze povečajo izločanje inzulina in s tem zmanjšajo porast koncentracije glukoze (30, 31). V celico vstopajo preko aktivnih prenašalnih sistemov, kakršen je npr. aminokislinski prenašalec 1 tipa L, prenašalec nevtralnih AK (angl. *large neutral amino acid transporter*, LAT1), ki je v celicah β močno izražen (32). Levcin in arginin sta najbrž edini AK, ki lahko ob podpraznih vrednostih glukoze sprožita izločanje inzulina. Levcin se v celice β prenaša preko omenjenega LAT1, pri čemer je prenos neodvisen od Na^+ in torej neelektrogen. Celici je levcin na voljo kot gorivo, hkrati pa je alosterični aktivator glutamat dehidrogenaze (33). Arginin je AK z nabojem, kar po vstopu v celico povzroči depolarizacijo celične membrane, alanin in glutamat pa v celico vstopata preko kotransporta z Na^+ ter s tem povzročita tok pozitivnih ionov v celico (6). Z vidika vpliva na izločanje inzulina je pomembno tudi vstopanje AK ali njihovih presnovkov v anaplerotične/kataplerotične reakcije, predvsem preko encima glutamat dehidrogenaza, ki katalizira dvosmerno reakcijo pretvorbe med glutatom in α -ketoglutaratom. Slednji je pomemben substrat v CCK. Povečana aktivnost glutamat dehidrogenaze ob aktivirajočih (angl. *gain of function*) mutacijah je povezana s sindromom hiperinzulinemične hipoglikemije, ki jo značilno poslabša beljakovinsko bogat obrok, kar je posledica povečanega nastanka anaplerotičnih produktov in s tem večjega obrata CCK ob vstopu AK, predvsem glutamina, v celico (34, 35). Hkrati so miši z izbitim genom za glutamat dehidrogenazo odporne na razvoj debelo-

sti in glukozne intolerance ob visoko kalorični dieti, kar kaže na vpletenost te veje ojačitvene poti pri razvoju sladkorne bolezni tipa 2 (36). Možen je tudi obraten potek reakcije, ki jo katalizira glutamat dehidrogenaza, in sicer v smeri nastanka glutamata ob presnovi glukoze. Ta iz celice izstopa preko ekscitatornega aminokislinskega prenašalca (angl. *excitatory amino acid transporter* 3, EAAT3) in s tem v celici sproži hiperpolarizacijski tok, ki zavira izločanje inzulina. Nekateri menijo, da je ta pot v fiziološkem smislu pomembnejša, na kar kaže tudi povečano izločanje inzulina ob zaviranju omenjenega prenašalca (6, 37). AK na izločanje inzulina vplivajo tudi posredno, preko spodbujanja izločanja inkretnskih hormonov, glukagonu podobnega peptida-1 (angl. *glucagon-like peptide*-1, GLP-1) ter od glukoze odvisnega inzulinotropnega peptida (angl. *glucose-dependent insulinotropic peptide*, GIP) (več v članku z naslovom Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : nevrohormonska ojačitvena pot) (38).

Proste maščobne kisline

PMK v odsotnosti glukoze nimajo večjega učinka na izločanje inzulina, pomembno pa ojačajo z glukozo sproženo izločanje inzulina in so tako predvsem *in vivo* nujne za normalno izločanje inzulina (21, 39). Pomembno je opozoriti na večurni časovni zamik med zaužitjem mešanega obroka, ki vsebuje tudi trigliceride, in pojavom PMK v krvnem obtoku. Neposredno po obroku zaradi učinkov inzulina in zaviranja lipolize v krvnem obtoku zaznamo celo upad ravni PMK (6). Takojšen učinek maščobnih kislin bi lahko bil posreden, preko aktivacije z beljakovino G sklopljenega receptorja (angl. *G protein-coupled receptor*, GPR) 119 na enteroendokrinih celicah tipa L, ki ob tem izločajo GLP-1. Več o učinkih GLP-1 v članku z naslovom Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : nevrohormonska ojačitvena pot (40). Tudi celice β

izražajo GPR za PMK, preko katerih se izrazi del njihovih učinkov na izločanje inzulina.

Vpliv PMK neposredno na celice β trebušne slinavke lahko razdelimo na tri veje. Prvi dve sta delno že bili opisani, saj se v veliki meri prekrivata tudi s presnovo glukoze. Prva je povezana s t. i. Randlovim ciklom, poimenovanim po raziskovalcu, ki je prvi opisal, da oksidacija PMK zavira oksidacijo glukoze v skeletni in srčni mišičnini, jetrih in celicah β trebušne slinavke. Pri tem PMK zavirajo predvsem delovanje piruvat dehidrogenaze in s tem nastanek acetil-CoA, v manjši meri pa tudi vstop glukoze v celico ter delovanje drugih encimov v procesu glikolize. Pomen cikla se izrazi med pomanjkanjem hranil v telesu, ko aktivacija lipolize poveča koncentracijo PMK v plazmi, slednje pa ob oksidaciji zavirajo porabo glukoze. S tem jo prihranijo za tkiva, ki jim glukoza predstavlja ključen vir energije (predvsem možgani). Podobno tudi porast PMK med telesno vadbo omogoči, da se glukoza, ki je ne porabijo aktivne mišice, uporabi za hitrejšo nadomeščanje izpraznjenih zalog mišičnega glikogena (41). Da obstaja tudi obraten proces, zaviranje oksidacije PMK ob oksidaciji glukoze, je Randle predvideval že na začetku, njegov obstoj in molekularni mehanizmi pa so bili dokazani kasneje. Gre za zgoraj opisani nastanek malonil-CoA, zaviranje CPT-1 in posledično kopičenje dolgoverižnega acil-CoA v citosolu. Ta kot ena izmed signalnih molekul uravnava aktivnost kanalov K_{ATP} in preko acetilacije beljakovin, ki sodelujejo pri eksocitozi, denimo sinaptotagmina ali s sinaptosomom povezane beljakovine 25 (angl. *synaptosomal-associated protein 25*, SNAP 25), ojača njihovo vezavo na celično membrano in s tem spodbuja izločanje inzulina (27, 42). Drugi del mehanizma, preko katerega se PMK vključujejo v izločanje inzulina, je povečana aktivnost že omenjenega cikla GL/FFA, kjer prav tako nastajajo maščobne signalne molekule, ki ojačajo izločanje inzulina (29). Tretja veja pa je učinek

PMK preko vezave na GPR40. Aktivacija receptorja preko fosfolipaze C sproži sproščanje Ca^{2+} iz endoplazemskega retikuluma in tako pripomore k sprožilnemu signalu (43). To tudi razlaga ugotovitve raziskave, da PMK sprožijo izločanje inzulina, ki je sicer minimalno, tudi pri podpraznih koncentracijah glukoze ali celo v njeni odsotnosti (6, 44). Miši brez GPR40 izločajo manj inzulina po spodbujanju s PMK, hkrati pa imajo normalno homeostazo glukoze kljub visokokalorični dieti. Drugi sorodni receptorji, ki morda na soroden način uravnavajo izločanje inzulina ob izpostavljenosti PMK (njihova vloga še ni povsem dokazana) so npr. GPR120, GPR41 in GPR119 (3). Približno polovica izločenega inzulina, ki ga spodbujajo PMK, je posledica neposredne aktivacije receptorja za PMK GPR40, preostali del pa zahteva njihovo presnovo (43).

Pomemben je tudi dvojni učinek PMK na delovanje celic β . Čeprav ima kratkotrajna izpostavljenost nezaestrenim PMK spodbujevalen učinek na izločanje inzulina, pa dolgotrajna izpostavljenost povišanim vrednostim negativno vpliva na delovanje celic β (27). Pri tem se raziskave še vedno ukvarjajo z vprašanjem, če je pri tem procesu ključna povišana raven PMK ali glukoze in če morajo biti za škodljivo delovanje dalj časa povišane vrednosti obeh skupin hranil. Povedano drugače – ali gre za lipotoksičnost, glukotoksičnost ali glukolipotoksičnost. V eksperimentalnih pogojih *in vitro* povišane vrednosti tako glukoze kot PMK samostojno negativno vplivajo na funkcijo celic β , zaradi številnih omejitev teh raziskav pa je pri prenosu ugotovitev na modele *in vivo* ali človeško fiziologijo potrebna previdnost. Čeprav zgodba o glavnem krivcu za disfunkcijo celic β še zdaleč ni zaključena, številne raziskave opisujejo škodljiv učinek PMK zgolj v prisotnosti kronično povišanih ravni glukoze. Hiperglikemija, ki ima lahko sicer sama po sebi negativen učinek na funkcijo celic β , naj bi bila tako nujen pogoj, da se izrazijo škodljivi

učinki povišanih ravni PMK. Gre za t. i. permisivno vlogo hiperglikemije (45–47). Koncept med raziskovalci sicer ni enotno sprejet in nekateri menijo, da je za funkcionalno okvaro celic β nujna prekomerna izpostavljenost kombinaciji hranil (48).

HORMONI IN ŽIVČNI PRENAŠALCI

Številne učinkovine iz skupine hormonov in živčnih prenašalcev imajo prav tako kot AK ter PMK spodbujevalen ali zaviralen učinek na izločanje inzulina. V skupini spodbujevalcev najdemo med drugimi GLP-1, GIP, holecistokinin, gastrin, acetilholin in vazoaktivni intestinalni polipeptid, med zaviralce pa uvrščamo somatostatin, adrenalin in grelin. Vse omenjene učinkovine in njihov mehanizem delovanja smo podrobneje opisali v članku z naslovom Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : nevrohormonska ojačitvena pot.

POGLED V PRIHODNOST

Že dalj časa poznamo številne učinkovine, ki vplivajo na izločanje inzulina, a njihovi mehanizmi še vedno niso razkriti. Prav tako odkrivamo tudi vedno nove plasti njihovega delovanja. Dober primer so učinkovine iz skupine sulfonilsečnin. Zanimiva zgodba o njihovem odkritju sega v obdobje druge svetovne vojne in je, kot nakazuje že ime, povezana z uporabo sulfonamidnih antibiotikov. Zaradi vsesplošnega pomanjkanja so ljudje uživali higiensko oporečno hrano, posledica tega pa so bili številni primeri tifoidne vročice, ki jih je francoski zdravnik Marcel Janbon zdravil z novoodkritimi predstavniki iz skupine sulfonamidov. Pri bolnikih so se pričeli pojavljati neželeni učinki v obliki krčev, kome in hipoglikemije, ki jih je fiziolog Auguste Loubatieres v sledečih letih povezal s spodbujevalnim učinkom

uporabljenih učinkovin na izločanje inzulina (49).

Z odkritjem novih signalih poti, kot je denimo s cAMP povezana beljakovina (angl. *exchange protein directly activated by cAMP 2*, Epac2), in dokazi, da to pot aktivirajo tudi omenjeni hipoglikemiki, se razkrivajo novi mehanizmi njihovega delovanja, katerih pomen *in vivo* še ni povsem jasen (50, 51). Omenjena pot delno razlaga tudi klinično pomembno vzajemno delovanje inkretinov in sulfonilsečnin. Boljše razumevanje mehanizmov sprožilne in ojačitvene poti razjasnjuje pogosto zmotno prepričanje, da je delovanje sulfonilsečnin od glukoze neodvisno. Sicer drži, da lahko sulfonilsečnine preko zaprtja kanalov K_{ATP} povzročijo nastanek sprožilnega signala tudi v odsotnosti glukoze, so pa za to potrebne visoke koncentracije zdravila v plazmi. Nasprotno je znotraj terapevtskih koncentracij delovanje sulfonilsečnin pomembno odvisno od koncentracije glukoze, kar je posledica tako seštevavanja učinkov na delovanje kanalov K_{ATP} kot tudi ojačitvenih presnovnih učinkov glukoze (51). Tako tudi pri učinkovinah, ki veljajo za stare znance klinične prakse, nova dognanja razkrivajo nove vidike njihove uporabe. Pri drugih je več znanega o tem, kako uravnavajo delovanje celic β pri laboratorijskih živalih, manj pa imamo znanja o prenosu teh ugotovitev na delovanje trebušne slinavke pri ljudeh. Pojavljajo se tudi nove učinkovine, ki na izločanje inzulina vplivajo preko doslej manj znanih mehanizmov. Primer so glikozidi stevia, pogosto uporabljani nadomestki sladkorja brez kalorij, ki preko omenjenih kanalov TRP ojačujejo z glukozo sproženo izločanje inzulina, hkrati pa kažejo zaščitne učinke pri razvoju sladkorne bolezni tipa 2 ob dieti z visoko vsebnostjo maščob (52).

LITERATURA

1. Henquin JC. Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose. *Diabetes*. 2000; 49 (11): 1751–60.
2. Prentki M, Matschinsky FM, Madiraju SR. Metabolic signaling in fuel-induced insulin secretion. *Cell Metab*. 2013; 18 (2): 162–85.
3. Newsholme P, Keane KK, Gaudel C, et al. (Dys)regulation of insulin secretion by macronutrients. In: Islam MS, ed. 2nd ed. Dordrecht: Springer; 2015. p. 126–156.
4. Satin LS. Localized calcium influx in pancreatic beta-cells: Its significance for Ca²⁺-dependent insulin secretion from the islets of langerhans. *Endocrine*. 2000; 13 (3): 251–62.
5. Henquin JC. The dual control of insulin secretion by glucose involves triggering and amplifying pathways in beta-cells. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011; 93 (Suppl 1): S27–31.
6. Rorsman P, Ashcroft FM. Pancreatic beta-cell electrical activity and insulin secretion: Of mice and men. *Physiol Rev*. 2018; 98 (1): 117–214.
7. Skelin Klemen M, Dolensek J, Slak Rupnik M, et al. The triggering pathway to insulin secretion: Functional similarities and differences between the human and the mouse beta cells and their translational relevance. *Islets*. 2017; 9 (6): 109–39.
8. Lenzen S. A fresh view of glycolysis and glucokinase regulation: History and current status. *J Biol Chem*. 2014; 289 (18): 12189–94.
9. Gloyn AL. Glucokinase (GCK) mutations in hyper- and hypoglycemia: Maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemia of infancy. *Hum Mutat*. 2003; 22 (5): 353–62.
10. Pullen TJ, Rutter GA. When less is more: The forbidden fruits of gene repression in the adult beta-cell. *Diabetes Obes Metab*. 2013; 15 (6): 503–12.
11. Bensellam M, Jonas JC, Laybutt DR. Mechanisms of β -cell dedifferentiation in diabetes: Recent findings and future research directions. *J Endocrinol*. 2017; 236 (2): R109–43.
12. Tarasov A, Dusonchet J, Ashcroft F. Metabolic regulation of the pancreatic beta-cell ATP-sensitive K⁺ channel: A pas de deux. *Diabetes*. 2004; 53 (Suppl 3): S113–22.
13. Islam MS. Calcium signaling in the islets. In: Islam M, ed. *Islets of Langerhans*. 2nd ed. Dordrecht: Springer; 2015. p. 605–32.
14. Henquin JC, Dufrane D, Gmyr V, et al. Pharmacological approach to understanding the control of insulin secretion in human islets. *Diabetes Obes Metab*. 2017; 19 (8): 1061–70.
15. Henquin JC. Regulation of insulin secretion: A matter of phase control and amplitude modulation. *Diabetologia*. 2009; 52 (5): 739–51.
16. Stožer A. Nernstov potencial in ohmski model membranskega potenciala. *Med Razgl*. 2014; 53 (2): 193–202.
17. Vennekens R, Mesuere M, Philippaert K. TRPM5 in the battle against diabetes and obesity. *Acta Physiol (Oxf)*. 2018; 222 (2).
18. Yosida M, Dezaki K, Uchida K, et al. Involvement of cAMP/EPAC/TRPM2 activation in glucose- and incretin-induced insulin secretion. *Diabetes*. 2014; 63 (10): 3394–403.
19. Ferdaoussi M, MacDonald PE. Toward connecting metabolism to the exocytotic site. *Trends Cell Biol*. 2017; 27 (3): 163–71.
20. Cheng K, Andrikopoulos S, Gunton JE. First phase insulin secretion and type 2 diabetes. *Curr Mol Med*. 2013; 13 (1): 126–39.
21. Nolan CJ, Prentki M. The islet beta cell: Fuel responsive and vulnerable. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2008; 19 (8): 285–91.
22. Lu M, Li C. Nutrient sensing in pancreatic islets: Lessons from congenital hyperinsulinism and monogenic diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2018; 1411 (1): 65–82.
23. Flotho A, Melchior F. Sumoylation: A regulatory protein modification in health and disease. *Annu Rev Biochem*. 2013; 82: 357–85.
24. Dai XQ, Plummer G, Casimir M, et al. Sumoylation regulates insulin exocytosis downstream of secretory granule docking in rodents and humans. *Diabetes*. 2011; 60 (3): 838–47.
25. Ferdaoussi M, Dai X, Jensen MV, et al. Isocitrate-to-SENPI signaling amplifies insulin secretion and rescues dysfunctional beta cells. *J Clin Invest*. 2015; 125 (10): 3847–60.
26. Roduit R, Nolan C, Alarcon C, et al. A role for the malonyl-CoA/long-chain acyl-CoA pathway of lipid signaling in the regulation of insulin secretion in response to both fuel and nonfuel stimuli. *Diabetes*. 2004; 53 (4): 1007–19.

27. Nolan CJ, Madiraju MS, Delghingaro-Augusto V, et al. Fatty acid signaling in the beta-cell and insulin secretion. *Diabetes*. 2006; 55 (Suppl 2): S16–23.
28. Zhao S, Poursharifi P, Mugabo Y, et al. α/β -Hydrolase domain-6 and saturated long chain monoacylglycerol regulate insulin secretion promoted by both fuel and non-fuel stimuli. *Molecular Metabolism*. 2015; 4 (12): 940–50.
29. Prentki M, Madiraju SR. Glycerolipid/free fatty acid cycle and islet beta-cell function in health, obesity and diabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 353 (1–2): 88–100.
30. Gannon MC, Nuttall FQ. Amino acid ingestion and glucose metabolism—a review. *IUBMB Life*. 2010; 62 (9): 660–8.
31. Floyd JC, Jr., Fajans SS, Conn JW, et al. Stimulation of insulin secretion by amino acids. *J Clin Invest*. 1966; 45 (9): 1487–502.
32. Moule VS, Ghislain J, Poitout V. Nutrient regulation of pancreatic beta-cell proliferation. *Biochimie*. 2017; 143: 10–7.
33. Yang J, Chi Y, Burkhardt BR, et al. Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutr Rev*. 2010; 68 (5): 270–9.
34. Stanley CA. Two genetic forms of hyperinsulinemic hypoglycemia caused by dysregulation of glutamate dehydrogenase. *Neurochem Intl*. 2011; 59 (4): 465–72.
35. Li C, Chen P, Palladino A, et al. Mechanism of hyperinsulinism in short-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency involves activation of glutamate dehydrogenase. *J Biol Chem*. 2010; 285 (41): 31806–18.
36. Vetterli L, Carobbio S, Frigerio F, et al. The amplifying pathway of the beta-cell contributes to diet-induced obesity. *J Biol Chem*. 2016; 291 (25): 13063–75.
37. Feldmann N, del Rio RM, Gjinoi A, et al. Reduction of plasma membrane glutamate transport potentiates insulin but not glucagon secretion in pancreatic islet cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2011; 338 (1–2): 46–57.
38. Carr RD, Larsen MO, Winzell MS, et al. Incretin and islet hormonal responses to fat and protein ingestion in healthy men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008; 295 (4): E779–84.
39. Stein DT, Esser V, Stevenson BE, et al. Essentiality of circulating fatty acids for glucose-stimulated insulin secretion in the fasted rat. *J Clin Invest*. 1996; 97 (12): 2728–35.
40. Moss CE, Glass LL, Diakogiannaki E, et al. Lipid derivatives activate GPR119 and trigger GLP-1 secretion in primary murine I-cells. *Peptides*. 2016; 77: 16–20.
41. Hue L, Taegtmeyer H. The randle cycle revisited: A new head for an old hat. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. 2009; 297 (3): E578–E91.
42. Deeney JT, Gromada J, Høy M, et al. Acute stimulation with long chain acyl-CoA enhances exocytosis in insulin-secreting cells (HIT T-15 and NMRI beta-cells). *J Biol Chem*. 2000; 275 (13): 9363–8.
43. Ferdaoussi M, Bergeron V, Zarrouki B, et al. G protein-coupled receptor (GPR)40-dependent potentiation of insulin secretion in mouse islets is mediated by protein kinase D1. *Diabetologia*. 2012; 55 (10): 2682–92.
44. Berne C. The metabolism of lipids in mouse pancreatic islets. The oxidation of fatty acids and ketone bodies. *Biochem J*. 1975; 152 (3): 661–6.
45. Poitout V, Robertson RP. Minireview: Secondary β -cell failure in type 2 diabetes—a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*. 2002; 143 (2): 339–42.
46. Poitout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: Fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocr Rev*. 2008; 29 (3): 351–66.
47. Poitout V, Amyot J, Semache M, et al. Glucolipotoxicity of the pancreatic beta cell. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1801 (3): 289–98.
48. Kim JW, Yoon KH. Glucolipotoxicity in pancreatic β -cells. *Diabetes Metab J*. 2011; 35 (5): 444–50.
49. Loubatieres-Mariani MM. [The discovery of hypoglycemic sulfonamides]. *J Soc Biol*. 2007; 201 (2): 121–5.
50. Seino S, Sugawara K, Yokoi N, et al. β -cell signalling and insulin secretagogues: A path for improved diabetes therapy. *Diabetes Obes Metab*. 2017; 19 (Suppl 1): 22–9.
51. Henquin JC. Misunderstandings and controversies about the insulin-secreting properties of antidiabetic sulfonylureas. *Biochimie*. 2017; 143: 3–9.
52. Philippaert K, Pironet A, Mesuere M, et al. Steviol glycosides enhance pancreatic beta-cell function and taste sensation by potentiation of TRPM5 channel activity. *Nat Commun*. 2017; 8: 14733.

Eva Paradiž¹, Andraž Stožer², Maša Skelin Klemen³

Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : nevrohormonska ojačitvena pot

Stimulus Secretion Coupling in Pancreatic β Cells: the Neurohormonal Amplifying Pathway

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: trebušna slinavka, celica β , izločanje inzulina, nevrohormonska ojačitvena pot, inkretini, adrenalin

Za zagotavljanje normalne homeostaze glukoze je ključno optimalno izločanje inzulina iz celic β trebušne slinavke, saj povečano izločanje inzulina vodi v življenjsko nevarno hipoglikemijo, medtem ko se nezadostno izločanje kaže v razvoju nenadnih in kroničnih zapletov, povezanih s sladkorno boleznijo. Delovanje celic β je pod vplivom številnih dejavnikov, ki vključujejo hrana, hormone in živčne prenašalce. Čeprav je glukoza osnovni in najpomembnejši dražljaj za celice β trebušne slinavke, številni hormoni in živčni prenašalci preko mnogih in še ne popolnoma raziskanih znotrajceličnih signalnih poti sodelujejo pri uravnavanju izločanja inzulina. Presnova glukoze je ključna za nastanek sprožilnega signala, tj. porast znotrajcelične koncentracije kalcijevih ionov. Hormoni in živčni prenašalci delujejo preko mehanizmov, ki vplivajo na koncentracijo kalcijevih ionov ali pa te ne spreminjajo, ampak zgolj uravnavajo občutljivost sekretornega aparata na kalcijeve ione. Ti modulatorji imajo lahko spodbujevalen ali zaviralen učinek na izločanje inzulina. Med spodbujevalce prištevamo glukagonu podoben peptid 1, od glukoze odvisni inzulinotropični peptid, holecistokinin, gastrin, acetilholin in vazoaktivni intestinalni polipeptid, med zaviralce pa uvrščamo somatostatin, adrenalin in grelin. V tem prispevku bomo podrobneje predstavili nevrohormonsko ojačitveno pot izločanja inzulina.

ABSTRACT

KEY WORDS: pancreas, β cell, insulin secretion, neurohormonal amplifying pathway, incretin hormones, adrenalin

Optimal insulin secretion from pancreatic β cells is essential for normal glucose homeostasis. Excessive insulin secretion causes life-threatening hypoglycemia, while insufficient secretion results in damaging acute and chronic consequences of diabetes mellitus.

¹ Asist. Eva Paradiž, dr. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor; eva.paradiz1@um.si

² Izr. prof. dr. Andraž Stožer, dr. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor

³ Doc. dr. Maša Skelin Klemen, dr. vet. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Taborska ulica 8, 2000 Maribor

Pancreatic β cells are influenced by numerous factors, such as nutrients, hormones and neurotransmitters. Although glucose is the primary and the most important stimulus for pancreatic β cells, numerous hormones and neurotransmitters regulate insulin secretion through various and not fully understood intracellular signalling pathways. Glucose metabolism is crucial for producing the triggering signal, the increased intracellular calcium concentration. On the other hand, hormones and neurotransmitters act through mechanisms that directly involve changes in cytosolic calcium concentration or do not influence the triggering signal but modulate the sensitivity of the secretory machinery to calcium ions. These modulators may either stimulate or inhibit insulin secretion. Glucagon-like peptide 1, glucose-dependent insulinotropic peptide, cholecystokinin, gastrin, acetylcholine, and vasoactive intestinal peptide stimulate, while somatostatin, adrenalin, leptin and ghrelin inhibit insulin secretion. In the present article, we describe the neurohormonal amplifying pathway of insulin secretion.

UVOD IN TAKSONOMIJA POTI DO IZLOČANJA INZULINA

Koncentracija glukoze v krvi je natančno nadzorovana, kar je ključnega pomena za zdravje posameznika. V homeostazi glukoze igra najpomembnejšo vlogo endokrini del trebušne slinavke, ki preko celic β , ki izločajo inzulin, in celic α , ki izločajo glukagon, uravnava koncentracijo glukoze v krvi. Tako preprečuje nastanek življenjsko nevarne hipoglikemije in nenadnih ter kroničnih zapletov zaradi dlje časa trajajoče hiperglikemije. Poleg glukoze, ki je glavni sekretagog, se celice β trebušne slinavke odzivajo še na vrsto drugih dejavnikov, ki uravnavajo izločanje inzulina.

Glukoza se po vstopu v celico β z glukoznimi prenašalci presnovi, čemur sledi porast koncentracije ATP v citosolu. Posledica je zmanjšana verjetnost za odpiranje od ATP odvisnih kalijevih kanalov (kanali K_{ATP}) in depolarizacija celične membrane, ki sproži odpiranje napetostno odvisnih kalcijevih kanalov (angl. *voltage dependent Ca^{2+} channels*, VDCC). Vdor kalcija v celico in porast njegove koncentracije v citosolu ($[Ca^{2+}]_i$) je ključen za uravnavano eksocitozo, pri kateri pride do zlivanja sekretornih mešičkov z inzulinom s plazemsko membrano in do izločanja inzulina v zunajcelični prostor.

V članku s podnaslovom Sprožilna in presnovna ojačitvena pot smo opisali omenjeno kaskado dogodkov in izpostavili glavne mehanizme presnovne ojačitve z glukozo in drugimi hranili, kot so aminokisline in proste maščobne kisline. Poleg omenjenega izločanje inzulina uravnavajo tudi hormoni in nekateri živčni prenašalci. V tej t. i. nevrohormonski ojačitveni poti imajo pomembno fiziološko vlogo zlasti inkretini, ki spodbujajo izločanje inzulina po obroku. Tako prispevajo k večjemu odzivu celic β po peroralnem vnosu glukoze v primerjavi z enako ravno glikemije, ki je dosežena intravensko (1, 2). Čeprav je inkretinski učinek pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa 2 (SB2) deloma oslabljen, se v zadnjih letih vse bolj izkorišča za zdravljenje SB2. Uporaba mimetikov inkretinov ali zaviralcev njihove razgradnje je namreč varna in ne povzroča neželenih hipoglikemij, ki se pojavljajo npr. pri uporabi nekaterih drugih antidiabetikov, zlasti sulfonilsečnin (SS). Poleg inkretinov spodbujata izločanje inzulina še peptidna hormona holecistokinin (CCK) in gastrin, katerih delovanje se vse bolj proučuje šele zadnja leta. Tudi glukagonu strukturno podoben peptid, vazoaktivni intestinalni peptid (angl. *vasoactive intestinal peptide*, VIP), do neke mere spodbuja izločanje inzulina (3). Pomemben vpliv na za-

viranje jetrne glukoneogeneze in izločanje inzulina ima v predabsorptivni ali cefalični fazi acetilholin, za katerega se je izkazalo, da ne deluje zgolj kot parasimpatični živčni prenašalec, ampak tudi kot parakrini dejavnik izločanja inzulina. Nasprotno med zaviralce izločanja inzulina štejemo somatostatini, adrenalin, leptin in grelin.

V nadaljevanju bomo podrobneje opisali do sedaj poznane mehanizme delovanja omenjenih spodbujevalcev in zaviralcev izločanja inzulina. Bistveni mehanizmi delovanja opisanih učinkovin so prikazani na sliki 1.

SPODBUJEVALCI IZLOČANJA INZULINA

Acetilholin

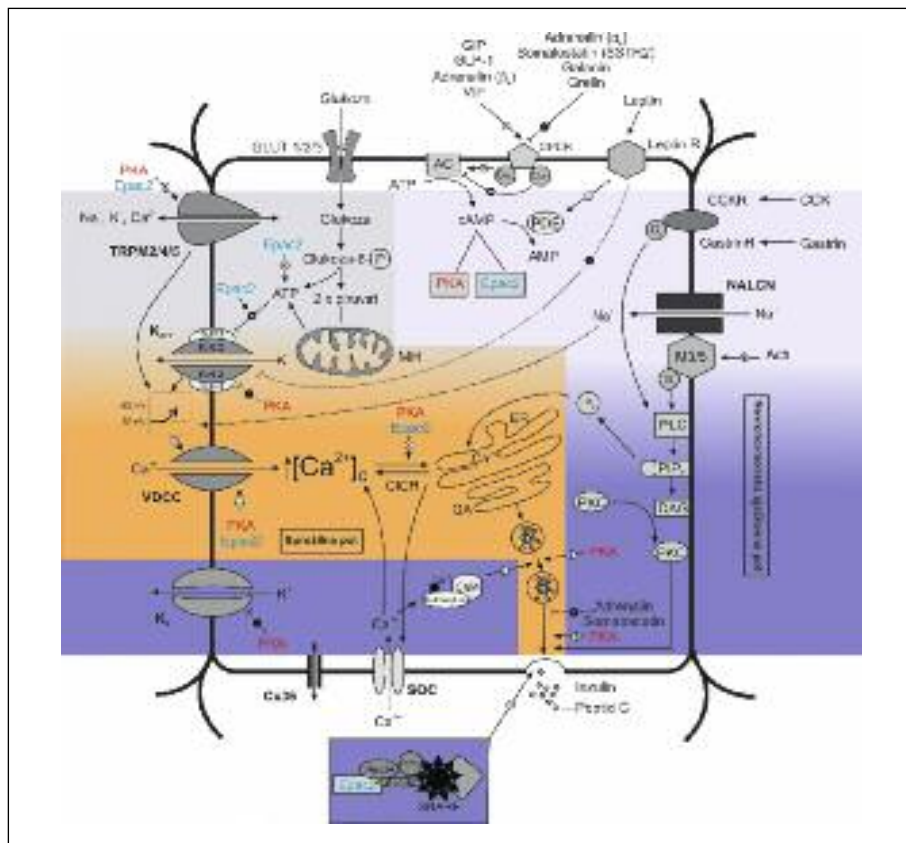
Celice β pri ljudeh imajo izražene muskarinske acetilholinske receptorje tipov M3 in M5, ki ob aktivaciji povečajo izločanje inzulina (4). Amplituda tega odziva je odvisna predvsem od koncentracije glukoze. Acetilholin preko vpliva na membranski potencial in porast $[Ca^{2+}]_c$ poveča sprožilni signal za izločanje, hkrati pa poveča tudi občutljivost sekretornega aparata na zvišanje $[Ca^{2+}]_c$. Poglavitni mehanizem delovanja poteka preko podenote α beljakovine G_q , ki aktivira fosfolipazo C (angl. *phospholipase C*, PLC). Ta hidrolizira fosfodiesterko vez fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfata (angl. *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*, PIP_2), iz katerega nastane diacilglicerol (angl. *diacylglycerol*, DAG) in inozitol 1,4,5-trisfosfat (angl. *inositol 1,4,5-trisphosphate*, IP_3), pomembna sekundarna sporočevalca. IP_3 z vezavo na inozitol 1,4,5-trisfosfatne receptorje (angl. *inositol trisphosphate receptors*, IP_3R) endoplazemskega retikuluma povzroči sproščanje znotrajceličnih zalog Ca^{2+} . DAG je lipidotopna molekula na plazemski membrani, ki ob prisotnosti Ca^{2+} povzroči premik svoje tarčne molekule, proteinske kinaze C (angl. *protein kinase C*, PKC), iz citosola na membrano. PKC po aktivaciji fosforilira substrate na serinskih in treoninskih ostan-

kih, med njene tarčne molekule pa spada tudi beljakovine, ki sodelujejo pri eksocitozi (5).

Acetilholin aktivira tudi majhen depolarizirajoči tok, ki je posledica aktivacije t. i. neselektivnih puščajočih Na^+ kanalov (angl. *non-selective Na^+ leak channels*, NALCN), sklopljenih z receptorjem M3. Tok samostojno ne zadošča za električno aktivacijo celice, okrepi pa depolarizacijo, sproženo z glukozo, kar aktivira še nekaj dodatnih napetostno odvisnih Ca^{2+} kanalov. Minimalen dodaten porast $[Ca^{2+}]_c$ povzroči tudi t. i. kapacitativni vstop Ca^{2+} ionov preko Ca^{2+} kanalov, ki jih aktivira izpraznjenje znotrajceličnih zalog Ca^{2+} (angl. *store operated conductance*, SOC) (6). Porast $[Ca^{2+}]_c$ preko kalmodulina aktivira tudi od kalmodulina odvisno proteinsko kinazo, ki v celici β pospeši mobilizacijo sekretornih mešičkov z inzulinom in tako vzdržuje zadosten bazen mešičkov, ki so na voljo za izločanje. To ob spodbujanju pospeši eksocitozo, hkrati pa vzdržuje sekretorno kapaciteto celic β (7).

Novejše raziskave kažejo tudi na vpletenost nikotinskih acetilholinskih receptorjev pri izločanju inzulina ob spodbujanju z acetilholinom. Zmanjšano izražanje teh receptorjev je povezano z zmanjšanim izločanjem inzulina in slabšo glukozno toleranco, hkrati pa bi lahko isti mehanizem preko desenzitizacije receptorjev in manjšega vpliva na endogeno sproščeni acetilholin prispeval k povečanemu tveganju za razvoj SB2 pri kadilcih (8, 9).

Kljub opisanim mehanizmom vpliv parasimpatičnega spodbujanja na homeostazo glukoze in izločanje inzulina ni enoznačen. Prvi razlog za to je, da se poleg acetilholina iz postganglijskih živčnih vlaken izločajo tudi dušikov oksid (NO), VIP, adenilat ciklazo aktivirajoči protein hipofize (angl. *pituitary adenylate cyclase-activating protein*, PACAP) in drugi živčni prenašalci, katerih učinki na celice β so lahko različni. Hkrati našete spojine vplivajo na različne celice v otočku in s tem vplivajo na



Slika 1. Povezave med sprožilno in nevrohormonsko ojačitveno potjo v celici β . Hormoni in živčni prenašalci lahko preko nevrohormonske ojačitvene poti (vijolična barva) uravnavajo z glukozo sproženo izločanje inzulina (rumena barva). Glukagonu podoben peptid (angl. *glucagon-like peptide-1*, GLP-1), od glukoze odvisni inzulintropični peptid (angl. *glucose-dependent insulintropic peptide*, GIP), vazoaktivni intestinalni polipeptid (angl. *vasoactive intestinal peptide*, VIP), somatostatin, adrenalin, grelin in galanin delujejo preko receptorjev, ki so sklopljeni z beljakovino G (angl. *G protein-coupled receptor*, GPCR) in tako preko spodbujanja (+) ali zaviranja (-) adenilat ciklaze (AC) uravnavajo koncentracijo citosolnega cikličnega adenozin monofosfata (angl. *cyclic adenosine monophosphate*, cAMP). Slednji z aktivacijo proteinske kinaze A (angl. *protein kinase A*, PKA) ali gvaninskega nukleotidnega izmenjevalnega dejavnika (angl. *exchange protein directly activated by cAMP* 2, Epac2) vpliva na izločanje inzulina preko aktivacije ali inhibicije ionskih kanalov, preko vpliva na notrajcelično koncentracijo kalcija ($[Ca^{2+}]_i$) ali preko neposrednih učinkov na proces eksocitoze. Holecistokinin (angl. *cholecystokinin*, CCK) z vezavo na holecistokininske receptorje (angl. *cholecystokinin receptor*, CCKR), gastrin z vezavo na gastrinske receptorje (GastrinR) in acetilholin (ACh) z vezavo na acetilholinske muskarinske receptorje tipa M3 in M5, ki so vsi sklopljeni z beljakovino G, aktivirajo podenoto α beljakovine G_q , ki aktivira fosfolipazo C (angl. *phospholipase C*, PLC). Ta hidrolizira fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat (angl. *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*, PIP₂), nastane diacilglicerol (angl. *diacylglycerol*, DAG) in inozitol 1,4,5-trisfosfat (angl. *inositol 1,4,5-trisphosphate*, IP₃). Ta povzroči sproščanje notrajceličnih zalog Ca^{2+} . DAG aktivira protein kinazo C (PKC), ki med drugim fosforilira tudi beljakovine, ki sodelujejo v procesu eksocitoze. ACh poleg tega aktivira tudi neselektivne Na^+ -puščajoče kanale (angl. *sodium leak channel non-selective protein*, NALCN), sklopljene z receptorjem M3. Tudi leptin z vezavo na leptinske receptorje (LeptinR) zavira izločanje inzulina, saj aktivira K_{ATP} -kanale in fosfodiesterazo (angl. *phosphodiesterase*, PDE), ki hidrolizira cAMP v AMP. Minus (-) pomeni zaviranje, plus (+) pa spodbujanje. Cx36 – presledkovni stik, ki ga tvori beljakovina koneksin 36 (angl. *connexin 36*), CICR – s Ca^{2+} -sproženo izločanje Ca^{2+} (angl. *calcium-induced calcium release*), MH – mitohondrij, GA – Golgijev aparat, ER – endoplazemski retikulum, VDCC – napetostno odvisni kalcijevi kanali (angl. *voltage-dependent calcium channels*), TRP – kanal prehodnega receptorskega potenciala (angl. *transient receptor potential channel*), Kir6.2 – transmembranska podenota K_{ATP} -kanalov, SUR1 – sulfonilsečninski receptor (angl. *sulfonylurea receptor*), ki je regulatorna enota K^+ -kanalov, SOC – Ca^{2+} -kanali, ki jih aktivira izpraznitev notrajceličnih zalog Ca^{2+} (angl. *store operated conductance*).

izločanje tudi drugih hormonov trebušne slinavke (5, 10). Povečan parasimpatični tonus se izrazi tudi v drugih tkivih in organih, ki se prav tako vključujejo v presnovne procese, npr. v jetrih in črevesju (11). Vagalno spodbujanje aktivira tudi muskarinske receptorje na črevesnih celicah L in tako poveča izločanje glukagonu podobnega peptida (angl. *glucagon-like peptide-1*, GLP-1) (12).

Najpomembnejši del učinkov acetilholina se fiziološko izrazi v t. i. predabsortivni ali cefalični fazi, pri kateri vidni in olfaktorni dražljaji preko holinergičnih živčnih končičev, ki izhajajo iz n. vagusa, sprožijo izločanje acetilholina. Cefalična faza je pomembna za normalno homeostazo glukoze, saj deluje kot signal pričakovanega porasta glukoze, ki preko zmanjšanja glukoneogeneze v jetrih ter začetnega izločanja inzulina omeji porast glukoze ter tako prepreči preveliko obremenitev celic β (5). Novejša dognanja, ki kažejo, da je acetilholin predvsem parakrini signal, ki ga izločajo celice α Langerhansovih otočkov, porajajo dvome o splošno sprejetem prepričanju, da so Langerhansovi otočki tako kot pri glodavcih in drugih živalskih vrstah tudi pri človeku bogato parasimpatično oživčeni. Do aktivacije celic α in izločanja glukagona pride ob znižanih ravneh glukoze, ko je izločanje inzulina običajno zavrto (13). Mehanizem na videz paradoksnega izločanja acetilholina in glukagona hkrati še ni povsem jasen. Kaže, da sta v celicah α glukagon in acetilholin shranjena v ločenih veziklih, kar bi teoretično omogočalo njuno neodvisno izločanje (4). Druga možnost upošteva časovni razpon delovanja acetilholina. Razpolovna doba acetilholina v Langerhansovih otočkih je zaradi aktivnosti acetilholinesteraze sicer kratka, a znotrajcelične signalne kaskade, ki jih hormon sproži po vezavi na receptor, lahko poteka jo v razponu več deset minut (14, 15). To pomeni, da lahko učinki hormona, ki se izloči, ko so vrednosti glukoze nižje, senzitivizira-

jo celice β v daljšem časovnem obdobju in pozitivno vplivajo na izločanje inzulina ob naslednjem porastu koncentracije glukoze. Acetilholin bi lahko imel tudi v tem primeru, podobno kot pri cefalični fazi izločanja, vlogo pripravljalca celic β (4, 13).

Hkrati acetilholin, ki ga izločajo celice α , deluje tudi na receptorje M1 na celicah δ , ki ob tem izločajo somatostatin, slednji pa na izločanje inzulina vpliva zaviralno. Tako lahko učinek acetilholina na izločanje inzulina razdelimo na neposredno (spodbujevalno) in posredno (zaviralno) pot. Skupen učinek parasimpatičnega spodbujanja na izločanje inzulina je tako težko predvideti, saj je odvisen od več dejavnikov, med drugimi tudi od časovnega in prostorskega vzorca izločanja acetilholina po nevralni in parakrini poti (4).

Inkretini

Odkritje hormonov inkretinskega sistema je vodila ugotovitev, da je izločanje inzulina večje ob peroralnem zaužitju glukoze, kot če enak porast plazemske koncentracije glukoze sprožimo z intravenskim vnosom ustrezne količine glukoze (t. i. inkretinski učinek) (1, 2). Iz tega so sklepali, da se ob prisotnosti hranil iz črevesja izloča snov, ki spodbuja celice β v endokrinem delu trebušne slinavke k izločanju inzulina. Izraz inkretini je leta 1932 uvedel belgijski fiziolog Jean La Barre, da bi pripravek črevesnih hormonov ločil na dva dela – sekretinski del, ki poveča izločanje eksokrinega dela trebušne slinavke, in inkretinski del, sestavljen iz takrat še neznanih hormonov, ki spodbudno delujejo na celice β in tako znižujejo raven glukoze v krvi (16). V splošnem danes pod inkretinski sistem uvrščamo dva hormona – od glukoze odvisni inzulinotropni peptid (angl. *glucose-dependent insulinotropic peptide*, GIP) in GLP-1, ki sta po obremenitvi z glukozo odgovorna za večino inkretinskega učinka (17). GIP izločajo celice K v zgornjem delu tankega črevesa, GLP-1 pa celice L v spodnjem delu tankega

črevesa in v debelem črevesu, pri obeh pa sproščanje sproži pristnost hranil v svetlini črevesja (18).

Strukturna sorodnost med GLP-1 in glukagonom, ki ga izločajo celice α trebušne slinavke, izhaja iz dejstva, da ju zapisuje isti gen oz. izhajata iz iste spojine – preproglukagona. Potranslacijsko preoblikovanje prohormona v različnih tipih celic vodi do nastanka učinkovin z raznolikimi učinki. Glukagon je sicer eden izmed ključnih hormonov, vpletenih v homeostazo glukoze, ki preko spodbujanja jetrne glukoneogeneze preprečuje prekomeren padec ravni krvnega sladkorja med obroki. Čeprav je glavni dražljaj za izločanje glukagona nizka koncentracija glukoze, celice α spodbujajo tudi aminokisliline. Povečano izločanje glukagona ob beljakovinskem obroku tako prepreči hipoglikemijo, ki bi jo lahko povzročilo z aminokislinami sproženo izločanje inzulina (glej članek Sklopitev med spodbujanjem in izločanjem v celicah β : sprožilna in presnovna ojačitvena pot). Isti mehanizem ob zaužitju mešanega aminokislinsko-glukoznega obroka poskrbi za manjši upad izločanja glukagona kot v primeru glukoze same, kar verjetno zmanjša zaviralni učinek inzulina na jetrno glukoneogenezo in s tem omogoči porabo viška aminokislin (ki se ne porabijo za nastanek beljakovin) za nastanek glukoze. Vedno bolj pa stopa v ospredje tudi širši pomen glukagona pri uravnavanju številnih drugih procesov, npr. izločanja inzulina iz celic β , razvoju sladkorne bolezni in debelosti (19, 20).

Inkretini pri koncentracijah glukoze, ki niso spodbujevalne, nimajo učinka na izločanje inzulina. Posledično je tveganje za neželene učinke v obliki hipoglikemije majhno, uporaba inkretinskih mimetikov ali zaviralcev razgradnje endogenih inkretinov (zaviralci dipeptidil peptidaze 4 (angl. *dipeptidyl peptidase-4*, DPP-4)) v terapevtske namene pa varna. Ojačajo tako prvo kot drugo fazo izločanja inzulina ob prisotnosti glukoze ali SS (18). Pri tem novejša raziskave

izpostavljajo glutamat kot ključno signalno molekulo, ki povezuje presnovo glukoze in učinek inkretinov (21).

Vezava inkretinskih hormonov na receptorje, sklopljene z beljakovino G, preko $G\alpha_s$ poveča aktivnost adenilat ciklaze (AC), kar privede do porasta cikličnega adenozin monofosfata (cAMP) (18, 22, 23). Obe omenjeni poti na izločanje inzulina vplivata preko uravnavanja aktivnosti ionskih kanalčkov, vpliva na $[Ca^{2+}]_c$ in distalnih učinkov na eksocitozo. Tako aktivacija PKA preko fosforilacije podenote SUR1 K_{ATP} -kanalov povzroči njihovo zaprtje in posledično poveča depolarizacijo celice, preko inhibicije podvrste napetostno odvisnih K^+ -kanalov pa podaljša trajanje akcijskega potenciala celice (18). PKA poveča tudi mobilnost sekretornih mešičkov z inzulinom in hitrost njihovega zlivanja z membrano, velikost bazena mešičkov, ki so pripravljeni na izločanje, in njihovo občutljivost na porast $[Ca^{2+}]_c$ (24). Epac2A poveča občutljivost K_{ATP} -kanalov na zaviralne učinke ATP, poveča sintezo ATP v celici ter poveča gostoto sekretornih mešičkov ob membrani in preko medsebojnega delovanja z beljakovinami, kot so Rim2, Rab3A, Piccolo, vpliva na njihovo sidranje in zlivanje s membrano (6, 25).

Obe poti vplivata tudi na porast $[Ca^{2+}]_c$ v celici – preko sproščanja znotrajceličnih zalog Ca^{2+} preko fosforilacije in aktivacije rianodinskih receptorjev ali preko povečane aktivnosti napetostno odvisnih Ca^{2+} -kanalov (6).

Inkretini povečajo tudi aktivnost neselektivnih kationskih kanalov iz družine TRP (angl. *transient receptor potential*, TRP) – TRPM2, TRPM4, TRPM5 – kar povzroči dodaten depolarizacijski tok v celico (26, 27). Pri vplivu inkretinov pa je treba opozoriti, da pri fizioloških koncentracijah GLP-1 (1–10 pM) ta sproži električno aktivnost v celicah brez zaznavnega porasta $[cAMP]_c$. Porast slednjega zaznamo pri višjih koncentracijah GLP-1 (> 1 nM), kar kaže, da je del

učinkov GLP-1 neodvisen od sprememb [c-AMP]_i. Del teh učinkov verjetno poteka preko PLC/PKC in posledične aktivacije kanalov TRPM (27).

Holecistokinin in gastrin

Gastrin in CCK sta peptidna hormona, ki sta si strukturno in funkcionalno zelo sorodna. Po obroku se sproščata iz antralnih celic G (gastrin) oz. celic I tankega črevesa (CCK). V tkivih se vežeta na CCK in gastrinske receptorje, ki so izraženi tudi v Langerhansovih otočkih trebušne slinavke. Aktivacija receptorja, sklopljenega z beljakovino G preko podenote α_q , aktivira pot PLC in poveča nastanek DAG ter IP₃ (28). Hormona povečata bazalno in z glukozo sproženo izločanje inzulina, zaradi česar sta bila med prvimi kandidati pri preučevanju inkretinskega učinka. Večina raziskav v 70.-letih je zaključila, da so količine, ki se sprostijo ob glukozni obremenitvi, same po sebi premajhne, da bi pomembneje vplivale na delovanje celic β . Proučevanje njunih inzulintropičnih učinkov je bilo posledično v zadnjih desetletjih zapostavljeno, GLP-1 in GIP pa sta se uveljavila kot edina (pomembna) hormona inkretinskega sistema. Da z osredotočenjem na zgolj dva hormona verjetno spregledamo pomemben del dogajanja, izhaja že iz načina testiranja učinka gastrointestinalnih hormonov v obliki glukozne obremenitve, ki je izrazito nefiziološka. Večina ljudi in živali hrano uživa v obliki mešanih obrokov, ki sprožijo izločanje številnih gastrointestinalnih hormonov, ne zgolj GLP-1 in GIP (29).

Napredek v tehniki merjenja koncentracij posameznih hormonov ter boljše razumevanje kompleksnih interakcij in prepletenosti signalnih poti različnih učinkovin je povrnil zanimanje tudi za to področje, sploh po objavi rezultatov raziskave na miših, v kateri je kombinirano zdravljenje z GLP-1 in gastrinom privedlo do pozitivnih učinkov na obnavljanje celic β ter povrnitev normalne glikemije (30). Številne nadaljnje raziskave, ki so potrjevale sinergistične učinke gastri-

na in CCK (samostojno ali v kombinaciji z GLP-1 ter GIP) na izgubo telesne teže, inzulinsko občutljivost, glikemični nadzor in funkcijo preživetja celic β , kažejo na terapevtski potencial tovrstnih kombinacij pri zdravljenju SB2 (31–33). Celice α -otočkov oseb in živali s prekomerno telesno težo izločajo povečano količino GLP-1, ki spodbuja izločanje CCK iz celic β . Opisana pot naj bi imela zaščitno vlogo pri ohranjanju mase celic β preko preprečevanja apoptoze ob razvoju debelosti, kar kaže na pomen lokalnega izločanja hormonov in parakrinega signaliziranja med celicami znotraj otočkov (34, 35).

Vazoaktivni intestinalni polipeptid

Pred več kot 40 leti so iz dvanajstnika pri prašiču prvič izolirali peptid, ki so ga zaradi vazodilatacijskega delovanja poimenovali VIP (36). Sprva je bil prepoznan predvsem kot intestinalni hormon, a se je kmalu izkazalo, da je tudi pomemben živčni prenašalec v centralnem živčnem sistemu. Svoj učinek VIP izzove z vezavo na dva tipa receptorjev, ki sta sklopljena z beljakovino G, VPAC1 in VPAC2 (3). Z vezavo na slednjega VIP v celicah β trebušne slinavke spodbuja izločanje inzulina v odvisnosti od glukoze (37). Znotrajcelična signalna pot je podobna inkretinski, saj pride do aktivacije AC in posledično do zvišanja [cAMP]_i. Po drugi strani pa omenjeni hormon z vezavo na VPAC1 poveča nastajanje glukoze v jetrih z aktivacijo glukoneogeneze. Fiziološka vloga VIP je vprašljiva, saj je zaradi podvrženosti proteolitični razgradnji njegova biološka aktivnost izjemno kratka in znaša manj kot eno minuto (38).

Zadnja leta se razvijajo agonisti VPAC2, za katere se je izkazalo, da spodbujajo izločanje inzulina v odvisnosti od glukoze in izboljšajo glukozno toleranco pri podganah, vendar je razvoj omenjenih agonistov v terapevtske namene težaven zaradi presnovne nestabilnosti, hitrega izločanja preko ledvic in omejene absorpcije (37, 39).

ZAVIRALCI IZLOČANJA INZULINA

Med glavne zaviralce izločanja inzulina uvrščamo somatostatin, adrenalin, galanin, grelin in leptin. Mehanizem zaviranja izločanja je pri vseh podoben, pri čemer so učinki na električno aktivnost prehodni, učinek na eksocitozo pa traja, dokler je celica izpostavljena učinkovini. Učinki galanina in grelina pri ljudeh v fizioloških pogojih verjetno niso bistveni, zato so podrobneje predstavljeni le učinki somatostatina, adrenalina in leptina (6).

Somatostatin

Je pomemben zaviralec izločanja inzulina. Vnos somatostatina povzroči hiperpolarizacijo celic preko aktivacije somatostatinskega receptorja tipa 2 (angl. *somatostatin receptor subtype 2*, SSTR2), kar preko $G\alpha_i$ zavira AC, zniža koncentracijo cAMP in poveča prevodnost membrane za ione K^+ . Ob tem pride do delne repolarizacije membrane in zmanjšane pritoka Ca^{2+} v celico in prekinitve eksocitoze. Možen je tudi vpliv na zaviranje depolarizirajočih tokov (6). Zaradi svojih učinkov analogi somatostatina (oktreotid, pasireotid, lanreotid) predstavljajo pomemben del konzervativnega zdravljenja inzulinoma, nevroendokrinega tumorja celic β , za katerega je značilno avtonomno izločanje inzulina (40).

Adrenalin

Človeške celice β izražajo adrenergične receptorje α_{2a} , α_{1b} in β_2 . Učinki aktivacije različnih tipov receptorjev imajo nasprotujoče si učinke, kar pojasnjuje dejstvo, da ima pri človeku adrenalin na izločanje inzulina tako spodbujevalne (β_2) kot tudi zaviralne učinke (α_2). Večinoma prevladujejo zaviralni učinki preko receptorjev α_2 , katerih aktivacija preko $G\alpha_{i/o}$ podobno kot pri somatostatinu preko inhibicije AC privede do delne repolarizacije membrane in zmanjšane pritoka Ca^{2+} ionov v celico. Upad $[cAMP]_c$ ob simpatičnem spodbujanju zmanjša tudi prevodnost preko neselektivnih kationskih

kanalov TRPM2 (41). Nasprotno pa se ob aktivaciji receptorjev β_2 aktivnost AC in koncentracija cAMP zvišata. Učinek simpatičnega sistema je pomemben za natančno uravnavanje izločanja inzulina, ali t. i. *fine tuning*. Upad števila receptorjev β_2 naj bi bil povezan z zmanjšano glukozno toleranco, ki jo pogosto opazujemo pri starostnikih (42).

Tako adrenalin kot somatostatin na izločanje inzulina vplivata tudi distalno na ravni eksocitoze, predvsem preko manjše pripravljenosti na zlivanje z membrano sekretornih mešičkov z inzulinom oz. *depri-minga*. Ti učinki so iz kvantitativnega vidika najverjetneje tudi najpomembnejši (6).

Leptin

Leptin je peptidni hormon, ki ga izločajo adipociti. Sodeluje pri uravnavanju presnove in homeostaze glukoze, pri čemer pomemben del njegovih učinkov poteka preko vpliva na apetit in porabo energije preko hipotalamusa, delno pa tudi preko neposrednih učinkov na periferna tkiva. Celice β izražajo leptinske receptorje, katerih aktivacija preko povečane aktivnosti kanalov K_{ATP} , zmanjšane vstopa glukoze v celico ter aktivacije fosfodiesteraze in posledično znižanja $[cAMP]_c$ v celici zavira izločanje inzulina (43). Inzulin nasprotno spodbuja izločanje leptina, s čimer hormona tvorita negativno povratno zvezo, imenovano adipo-inzularna os (44). Koncentracija leptina v krvi je neposredno povezana s količino maščevja v telesu. Pri osebah s prekomerno telesno težo je uravnavanje telesne teže in drugih procesov, ki so pod nadzorom leptina, moteno. Govorimo o razvoju leptinske rezistence, ki se kaže tudi na nivoju celic β , kjer porastu leptina ob pridobivanju na telesni teži ne sledi ustrezno zmanjšanje izločanja inzulina. Omenjeno pojasnjuje povišane ravni obeh hormonov, ki jih zaznamo pri osebah s prekomerno telesno težo (45). Lahko pa hiperinzulinemijo in druge simptome pri redkih posameznikih s pomanjkanjem leptina (denimo v sklopu

kongenitalnega pomanjkanja) rešujemo z nadomestnim zdravljenjem z rekombinantnim hormonom, kar normalizira izločanje inzulina in izboljša inzulinsko občutljivost (46, 47).

Zanimive učinke pomanjkanja leptina na delovanje celic β lahko opazujemo pri mišjih modelih s tkivno specifičnim pomanjkanjem leptinskega receptorja v trebušni slinavki, kjer se hiperinzulinemija razvije kot prva izmed funkcionalnih nepravilnosti. Kot sekundarne posledice ji sledijo pojav inzulinske rezistence, debelosti, motene tolerance za glukozo ter v nekaterih primerih celo znižane ravni glukoze na tešče, slednje verjetno zaradi povečanega bazalnega izločanja inzulina (48, 49). Tovrstne raziskave razkrivajo nov pogled na splošno sprejeto razumevanje patogeneze sladkorne bolezni, pri kateri je prekomerna telesna teža (kot prvi korak v tem procesu) odgovorna za pojav inzulinske rezistence. Povečano izločanje inzulina je v tem modelu zgolj kompenzacijski mehanizem, ki sledi razvoju periferne inzulinske rezistence. Vse več raziskav kaže, da pomembno vlogo igra tudi obraten proces, pri katerem je motnja v delovanju celic β s posledično hiperinzulinemijo primarna sprememba. Ne zgolj, da je povečano izločanje inzulina lahko zaznavno že pred razvojem debelosti, hipersekrecija inzulina prekomerno pridobivanje na teži pospešuje in je za razvoj debelosti in inzulinske rezistence celo soodgovorna (50–53). Različni vidiki motenega uravnavanja adipo-inzularne osi tako predstavljajo enega izmed pomembnejših mehanizmov, preko katerih se patogeneza debelosti in SB2 prepletata (44).

POGLED V PRIHODNOST

Sladkorna bolezen predstavlja enega od največjih javnozdravstvenih problemov, saj danes ogroža že več kot 400 milijonov ljudi po svetu, po pričakovanjih pa bo število bolnikov do leta 2040 naraslo na 640 milijonov (54). Več kot 90 % teh bolnikov zbo-

li za SB2, ki jo opredeljuje inzulinska rezistenca in sprva relativno, nato pa tudi absolutno pomanjkanje inzulina. Za zdravljenje SB2 so na voljo številna zdravila, ki bodisi izboljšujejo občutljivost tarčnih tkiv na inzulini, bodisi spodbujajo celice β k večjemu izločanju inzulina. Med slednjimi so najpogostejše uporabljena zdravila iz skupine SS, ki so sposobna aktivacije sprožilne poti v celicah β trebušne slinavke in so zelo potentna antidiabetična zdravila, a lahko njihova uporaba povzroči hipoglikemijo in pridobitev telesne mase. Dandanes se zato v praksi vse pogostejše uporabljajo učinkovine, ki spodbujajo izločanje inzulina po prej opisani nevrohormonski ojačitveni poti, za katero je potrebna prisotnost glukoze. Največji razvoj je bil v zadnjih letih narejen na področju inkretinov. Čeprav je inkretinski učinek pri bolnikih s SB2 delno zmanjšan, je zmanjšanje inzulinitotropnega učinka prisotno le pri GIP, delovanje GLP-1 pa ostaja praktično nespremenjeno kljub nižjim koncentracijam hormona v krvi pri bolnikih s SB2 (55, 56). Zato so terapevtski pristopi k zdravljenju SB2 usmerjeni večinoma k povečanju učinka GLP-1 s pomočjo na razgradnjo odpornih agonistov receptorjev za GLP-1 (mimetiki inkretinov) ali s pomočjo zaviralcev encima DPP-4, ki je odgovoren za hitro razgradnjo inkretinskih hormonov. Ker vemo, da so tako celice β kot tudi intestinalne celice, ki poleg GLP-1 in GIP izločajo tudi CCK in VIP, izpostavljene zapleteni mešanici hranil, ki spodbuja njihovo izločanje, se vse več pomena daje preučevanju ne zgolj inkretinov, temveč tudi CCK in VIP pri izločanju inzulina. Mehanizmi delovanja teh snovi so zapleteni in še neraziskani, njihove koncentracije pa nizke in biološka aktivnost kratka, kar predstavlja velik izziv za raziskovalce možnih novih antidiabetikov. Prav tako ni jasno, kaj se s celicami β in njihovimi odzivi na sprožilce in ojačevalce inzulinskega izločanja zgodi med razvojem SB2, saj se le malo raziskav ukvarja z vlogo funkcionalne

adaptacije v okviru kompenzatornega odgova na inzulinsko rezistenco. Zaradi navedenega je znanje o spremembah na nivoju sklopitve med spodbujanjem in izločanjem

v celicah β med razvojem SB2 zaenkrat precej pomanjkljivo. Nujne dodatne raziskave na tem področju bodo lahko predlagale možne nove tarče za zdravila v prihodnosti.

LITERATURA

1. Elrick H, Stimmler L, Hlad CJ, Jr., et al. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *J Clin Endocrinol Metab.* 1964; 24: 1076–82.
2. McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS. New interpretation of oral glucose tolerance. *Lancet.* 1964; 2 (7349): 20–1.
3. Igarashi H, Fujimori N, Ito T, et al. Vasoactive intestinal peptide (VIP) and VIP receptors-elucidation of structure and function for therapeutic applications. *Int J Clin Med.* 2011; 2 (4): 500–8.
4. Molina J, Rodriguez-Diaz R, Fachado A, et al. Control of insulin secretion by cholinergic signaling in the human pancreatic islet. *Diabetes.* 2014; 63 (8): 2714–26.
5. Gilon P, Henquin JC. Mechanisms and physiological significance of the cholinergic control of pancreatic beta-cell function. *Endocr Rev.* 2001; 22 (5): 565–604.
6. Rorsman P, Ashcroft FM. Pancreatic beta-cell electrical activity and insulin secretion: Of mice and men. *Physiol Rev.* 2018; 98 (1): 117–214.
7. Gromada J, Høy M, Renström E, et al. CaM kinase II-dependent mobilization of secretory granules underlies acetylcholine-induced stimulation of exocytosis in mouse pancreatic B-cells. *The J Physiol.* 1999; 518 (Pt 3): 745–59.
8. Ganic E, Singh T, Luan C, et al. MafA-controlled nicotinic receptor expression is essential for insulin secretion and is impaired in patients with type 2 diabetes. *Cell Rep.* 2016; 14 (8): 1991–2002.
9. Yoshikawa H, Hellström-Lindahl E, Grill V. Evidence for functional nicotinic receptors on pancreatic beta cells. *Metabolism.* 2005; 54 (2): 247–54.
10. Sanlioglu AD, Karacay B, Balci MK, et al. Therapeutic potential of VIP vs PACAP in diabetes. *J Mol Endocrinol.* 2012; 49 (3): R157–67.
11. Gautam D, Han SJ, Hamdan FF, et al. A critical role for beta cell M3 muscarinic acetylcholine receptors in regulating insulin release and blood glucose homeostasis in vivo. *Cell Metab.* 2006; 3 (6): 449–61.
12. Lustig RH. Hypothalamic obesity after craniopharyngioma: Mechanisms, diagnosis, and treatment. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2011; 2: 60.
13. Rodriguez-Diaz R, Dando R, Jacques-Silva MC, et al. Alpha cells secrete acetylcholine as a non-neuronal paracrine signal priming beta cell function in humans. *Nat Med.* 2011; 17 (7): 888–92.
14. Zawulich WS, Zawulich KC, Rasmussen H. Cholinergic agonists prime the beta-cell to glucose stimulation. *Endocrinology.* 1989; 125 (5): 2400–6.
15. Godfrey DA, Matschinsky FM. Enzymes of the cholinergic system in islets of Langerhans. *J Histochem Cytochem.* 1975; 23 (9): 645–51.
16. Zunz E, Barre JL. Contributions a l'étude des variations physiologiques de la sécrétion interne du pancreas. *Archives Internationales de Physiologie.* 1930; 33 (2): 142–58.
17. Ahren B. Glucagon-early breakthroughs and recent discoveries. *Peptides.* 2015; 67: 74–81.
18. Yabe D, Seino Y. Two incretin hormones GLP-1 and GIP: Comparison of their actions in insulin secretion and beta cell preservation. *Prog Biophys Mol Biol.* 2011; 107 (2): 248–56.
19. Gannon MC, Nuttall FQ. Amino acid ingestion and glucose metabolism—a review. *IUBMB Life.* 2010; 62 (9): 660–8.

20. Marroqui L, Alonso-Magdalena P, Merino B, et al. Nutrient regulation of glucagon secretion: Involvement in metabolism and diabetes. *Nutr Res Rev.* 2014; 27 (1): 48–62.
21. Yokoi N, Gheni G, Takahashi H, et al. β -cell glutamate signaling: Its role in incretin-induced insulin secretion. *J Diabetes Investig.* 2016; 7 (Suppl 1): 38–43.
22. de Rooij J, Zwartkruis FJT, Verheijen MHG, et al. Epac is a Rap1 guanine-nucleotide-exchange factor directly activated by cyclic AMP. *Nature.* 1998; 396: 474–7.
23. Cheng X, Ji Z, Tsalkova T, et al. Epac and PKA: A tale of two intracellular cAMP receptors. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2008; 40 (7): 651–62.
24. Skelin M, Rupnik M. cAMP increases the sensitivity of exocytosis to Ca^{2+} primarily through protein kinase A in mouse pancreatic beta cells. *Cell Calcium.* 2011; 49 (2): 89–99.
25. Eliasson L, Ma X, Renstrom E, et al. SUR1 regulates PKA-independent cAMP-induced granule priming in mouse pancreatic B-cells. *J Gen Physiol.* 2003; 121 (3): 181–97.
26. Yosida M, Dezaki K, Uchida K, et al. Involvement of cAMP/EPAC/TRPM2 activation in glucose- and incretin-induced insulin secretion. *Diabetes.* 2014; 63 (10): 3394–403.
27. Shigeto M, Ramracheya R, Tarasov AI, et al. GLP-1 stimulates insulin secretion by PKC-dependent TRPM4 and TRPM5 activation. *J Clin Invest.* 2015; 125 (12): 4714–28.
28. Lazo de la Vega-Monroy ML, Fernandez-Mejia C. Beta-cell function and failure in type 1 diabetes. In: Wagner D, ed. *Type 1 Diabetes - pathogenesis, genetics and immunotherapy.* Rijeka: IntechOpen; 2011.
29. Rehfeld JF. Incretin physiology beyond glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide: Cholecystokinin and gastrin peptides. *Acta Physiol (Oxf).* 2011; 201 (4): 405–11.
30. Suarez-Pinzon WL, Power RF, Yan Y, et al. Combination therapy with glucagon-like peptide-1 and gastrin restores normoglycemia in diabetic NOD mice. *Diabetes.* 2008; 57 (12): 3281–8.
31. Pathak V, Flatt PR, Irwin N. Cholecystokinin (cck) and related adjunct peptide therapies for the treatment of obesity and type 2 diabetes. *Peptides.* 2018; 100: 229–35.
32. Khan D, Vasu S, Moffett RC, et al. Expression of gastrin family peptides in pancreatic islets and their role in beta-cell function and survival. *Pancreas.* 2018; 47 (2): 190–9.
33. Téllez N, Joanny G, Escoriza J, et al. Gastrin treatment stimulates β -cell regeneration and improves glucose tolerance in 95% pancreatectomized rats. *Endocrinology.* 2011; 152 (7): 2580–8.
34. Lavine JA, Raess PW, Stapleton DS, et al. Cholecystokinin is up-regulated in obese mouse islets and expands β -cell mass by increasing β -cell survival. *Endocrinology.* 2010; 151 (8): 3577–88.
35. Linnemann AK, Neuman JC, Battiola TJ, et al. Glucagon-like peptide-1 regulates cholecystokinin production in β -cells to protect from apoptosis. *Molecular Endocrinology.* 2015; 29 (7): 978–7.
36. Said SI, Mutt V. Polypeptide with broad biological activity: Isolation from small intestine. *Science.* 1970; 169 (3951): 1217–8.
37. Tsutsumi M, Claus TH, Liang Y, et al. A potent and highly selective VPAC2 agonist enhances glucose-induced insulin release and glucose disposal: A potential therapy for type 2 diabetes. *Diabetes.* 2002; 51 (5): 1453–60.
38. Domschke S, Domschke W, Bloom SR, et al. Vasoactive intestinal peptide in man: Pharmacokinetics, metabolic and circulatory effects. *Gut.* 1978; 19 (11): 1049–53.
39. Giordanetto F, Revell JD, Knerr L, et al. Stapled vasoactive intestinal peptide (vip) derivatives improve VPAC2 agonism and glucose-dependent insulin secretion. *ACS Med Chem Lett.* 2013; 4 (12): 1163–8.
40. Ito T, Lee L, Jensen RT. Treatment of symptomatic neuroendocrine tumor syndromes: Recent advances and controversies. *Expert opinion on pharmacotherapy.* 2016; 17 (16): 2191–205.
41. Ito K, Dezaki K, Yoshida M, et al. Endogenous $\alpha 2A$ -adrenoceptor-operated sympathoadrenergic tones attenuate insulin secretion via cAMP/TRPM2 signaling. *Diabetes.* 2017; 66 (3): 699–709.
42. Santulli G, Lombardi A, Sorriento D, et al. Age-related impairment in insulin release: The essential role of $\beta(2)$ -adrenergic receptor. *Diabetes.* 2012; 61 (3): 692–701.
43. Marroqui L, Gonzalez A, Neco P, et al. Role of leptin in the pancreatic β -cell: Effects and signaling pathways. *J Mol Endocrinol.* 2012; 49 (1): R9–17.
44. Seufert J. Leptin effects on pancreatic β -cell gene expression and function. *Diabetes.* 2004; 53 (suppl 1): S152–8.
45. Lee YH, Magkos F, Mantzoros CS, et al. Effects of leptin and adiponectin on pancreatic β -cell function. *Metabolism.* 2011; 60 (12): 1664–72.
46. Farooqi IS, O'Rahilly S, Gibson WT, et al. Congenital leptin deficiency due to homozygosity for the $\Delta 133G$ mutation: Report of another case and evaluation of response to four years of leptin therapy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2004; 89 (10): 4821–26.

47. Chan JL, Lee JH, Mantzoros CS, et al. Recombinant methionyl human leptin therapy in replacement doses improves insulin resistance and metabolic profile in patients with lipoatrophy and metabolic syndrome induced by the highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91 (7): 2605–11.
48. Gray SL, Donald C, Jetha A, et al. Hyperinsulinemia precedes insulin resistance in mice lacking pancreatic betacell leptin signaling. *Endocrinology.* 2010; 151 (9): 4178–86.
49. Covey SD, Wideman RD, McDonald C, et al. The pancreatic β cell is a key site for mediating the effects of leptin on glucose homeostasis. *Cell Metab.* 2006; 4 (4): 291–302.
50. Templeman NM, Skovso S, Page MM, et al. A causal role for hyperinsulinemia in obesity. *J Endocrinol.* 2017; 232 (3): R173–83.
51. Kahn BB, Flier JS. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000; 106 (4): 473–81.
52. Corkey BE. Banting lecture 2011: Hyperinsulinemia: Cause or consequence? *Diabetes.* 2012; 61 (1): 4–13.
53. Stožer A, Hojs R, Dolenšek J. Beta cell functional adaptation and dysfunction in insulin resistance and the role of chronic kidney disease. *Nephron.* 2019.
54. International diabetes federation. IDF diabetes atlas. 8ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2017.
55. Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, et al. Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1993; 91 (1): 301–7.
56. Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S, et al. Determinants of the impaired secretion of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86 (8): 3717–23.

Prispelo 24. 5. 2018

Petra Bukovec¹, Simon Rekanovič², Ana Sever³, Tomaž Zupanc⁴

Mumifikacija, saponifikacija in vloga plesni pri razkroju trupa

Mummification, Saponification and the Role of Mold in the Decomposition of Corpse

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: sodna medicina, posmrtni interval, pozne mrliške spremembe, gnitje, mrliški vosek

Po smrti se v telesu začnejo biološki in fizikalni procesi, ki vodijo v razkroj trupa. Procese delimo na zgodnje in pozne, slednji veljajo za gotov znak smrti. Poznavanje poznih mrliških sprememb je poleg razjasnitve vzroka smrti pomembno za oceno okoliščin, v katerih je bilo truplo najdeno, časa smrti in dejavnikov, povezanih s posmrtnimi spremembami. Pozne mrliške spremembe lahko zakrijejo in otežijo prepoznavo poškodb, nastalih pred smrtjo, npr. obrambnih ureznin ali poškodb, neposredno povezanih z vzrokom smrti. To so npr. vbodne, strelne rane ali električne značke. Skeletizacija trupa je končni proces razpadanja trupa. V pričujočem članku so predstavljeni procesi in spremembe, nastale pri gnitju, mumifikaciji ter saponifikaciji, prav tako pa tudi vloga plesni pri razkroju trupa in pomen različnih dejavnikov, ki vplivajo na njegov potek. Strnjen pregled procesov in dejavnikov, ki vplivajo na razkroj trupa, bo v pomoč vsem, ki opravljajo mrliško-pregledno službo, služil pa bo tudi kot dodatna literatura pri študiju sodne medicine.

ABSTRACT

KEY WORDS: forensic medicine, postmortem interval, late postmortem changes, putrefaction, corpse wax

After death, different biological and physical processes begin that lead to the decomposition of the body. These processes are divided into early and late, with the latter being regarded as the definitive sign of death. In addition to the confirmation of death, understanding postmortem processes is important for assessing the circumstances in which the body was found, as well as the time and factors of the postmortem changes. Late postmortem processes make it difficult to define or cover the ante-mortem injuries or cause of death such as defensive cuts, stab wounds, gunshot wounds or electric marks. After many years, late onset death processes lead to the skeletalization process, which is the final process of body decomposition. The article presents the processes of mummification, saponification and the role of mold in the decomposition of the corpse.

¹ Petra Bukovec, dr. med., Katedra za Sodno medicino in deontologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana

² Simon Rekanovič, dr. med., Katedra za Sodno medicino in deontologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana

³ Ana Sever, dr. med., Katedra za Sodno medicino in deontologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana

⁴ Doc. dr. Tomaž Zupanc, dr. med., Inštitut za Sodno medicino, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana; tomaz.zupanc@mf.uni-lj.si

nification and the role of mold in the decomposition of the body, factors in the development of these, and the appearance of changes important for the identification. The text serves as a concise summary of literature and benefits general practitioners, doctors of family medicine and others as additional literature in the field of forensic medicine.

UVOD

Trupla so po smrti izpostavljena različnim biološkim in fizikalnim procesom razpadanja in razkroja. Procesi sprva potekajo na celični ravni, z napredovanjem pa postanejo vidni tudi na zunaj (1, 2). Razpadanje in razkroj trupla se začne s samorazgradnjo v presnovno bolj aktivnih celicah, celicah, ki vsebujejo večje količine vode in lizosomov, ter s pomočjo mikroorganizmov v okolju (3–5). Odločilnega pomena za razpad in razkroj trupla je delovanje zunanjih dejavnikov, kot so členonožci, bakterije in glive ter v manjši meri začetek avtolitičnih in gnilobnih procesov, ki se začnejo v notranjosti trupla (6). Tudi lastnosti okolja, v katerem je truplo, in dejavniki, povezani s stanjem organizma pred nastopom smrti (kot so npr. masa trupla, debelina plasti oblačil in podkožnega maščevja, zdravstveno stanje pokojnika, poškodba in starost ob smrti), pomembno vplivajo na hitrost razpadanja in razkrajanja trupla (3, 7, 8).

Razlikujemo med zgodnjimi in poznimi mrliškimi spremembami. Le pozne mrliške spremembe so prepoznane kot gotov znak smrti (3, 9). Med pozne mrliške spremembe štejemo gnitje, mumifikacijo, saponifikacijo ali nastajanje mrliškega voska in trohnjenje oz. razraščanje plesni (3, 10, 11).

Razumevanje mrliških sprememb je ključnega pomena za oceno časovnega okvira oz. posmrtnega intervala, tj. časa od nastopa smrti do najdbe trupla (12). Okoliščine pojave istovrstnih poznih mrliških sprememb so kljub enakim splošnim razmeram v okolici trupla med razpadanjem zelo spremenljive (13). Pri tem je odločilen dejavnik mikrookolje ob truplu (14).

V skladu z določbami Pravilnika o pogojih in načinu opravljanja mrliško pregled-

ne službe je pri mrliškem pregledu treba pregledati truplo na kraju najdbe trupla (15). Spremembe, ki so ugotovljene pri pregledu, nam lahko veliko povedo o vzroku in času smrti, stanju trupla ter okolju, v katerem je bilo truplo do najdbe. Tako zbrane ugotovitve lahko pomagajo pri usmerjanju obravnave trupla in preiskavi morebitnih sumljivih okoliščin smrti (16).

Čeprav je delež kaznivih dejanj zoper življenje in telo v Republiki Sloveniji vse od leta 2005 v upadu (predvsem število ubojev), je sodelovanje zdravnika na kraju najdbe trupla nujno potrebno (16, 17). Sodelovanje vseh deležnikov, vključenih v kriminalistično preiskavo, se začne že na kraju ogleda kaznivega dejanja. Zato so znanje in izkušnje zdravnika, ki sodeluje pri ogledu in obravnavi kraja smrti ter posmrtni obravnavi trupla, zelo pomemben dejavnik v postopku kriminalistične preiskave (16).

Preiskava mesta kaznivega dejanja in najdišča trupla je pomemben vir materialnih sledi in drugih dejavnikov, povezanih z dejanjem. Zato bi bilo treba v sestavo preiskovalcev, ki opravljajo ogled najdišča trupla, vključiti tudi zdravnika z izkušnjami s področja sodne medicine oz. poznavanja posmrtnih sprememb. Na takšen način bi lahko odpravili nekatere pomanjkljivosti, do katerih prihaja pri obravnavi najdišča trupla, še zlasti v povezavi s sumljivimi okoliščinami smrti (18).

GNITJE

Gnitje (lat. *putrefactio cadaveris*) in razkroj trupla sta procesa razpada tkivnih gradnikov zaradi avtolitičnih in heterolitičnih procesov, ki potekajo po smrti. Med gnitjem prevladujejo anaerobni redukcijski procesi,

med razkrojem oz. razpadanjem trupla pa aerobni oksidacijski procesi, ki potekajo v prisotnosti mikroorganizmov. Celične membrane po smrti propadejo zaradi prekinjenega dotoka kisika in padca pH citosola (3, 19, 20).

V procesu avtolize sodelujejo telesu lastni hidrolitski encimi (kislota fosfataza, kislota ribonukleaza in deoksiribonukleaza, katepsin, kolagenaza in drugi), ki se sprosti iz celic po propadu celičnih membran in jih aktivira nizek pH citosola (3, 19, 20).

V nadaljnjem procesu gnitja, ki ga imenujemo heteroliza, sodelujejo številni mikroorganizmi. Sprva sodelujejo organizmu lastne bakterije iz črevesne flore, pri napredovanju procesa pa tudi mikroorganizmi iz okolja, v katerem je truplo (1, 3, 5, 21). Med procesom gnitja potekajo oksidoredukcijski procesi, s katerimi se beljakovine, maščobe in ogljikovi hidrati razgradijo na osnovne gradnike, pri tem pa nastajajo vodikove spojine (3, 11). Z razgradnjo beljakovin nastajajo aminokisline, ki so deaminirane ali karboksilirane v ustrezne kisline oz. amine, in končna produkta amonijak in ogljikov dioksid. Z anaerobno glikolizo nastaja iz glukoze laktat in z bakterijsko alkoholno fermentacijo iz monosaharidov gnilobni alkoholi. S pomočjo hidrolaz, esteraz in katalaz se lipidi razgradijo v osnovne gradnike (3, 9). Med razpadanjem trupla pride tudi do oksidativnega razpada ogljikove, fosforjeve in žveplene kisline (3, 11).

Ker je neposredno po smrti v telesu še dovolj kisika, sprva sodelujejo v procesu gnitja aerobne bakterije (glavni predstavniki *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.) (3, 9, 22–24). Proces gnitja in nastajanje gnilobnih plinov spremeni okolje v anaerobno, zato z napredovanjem procesa prevladajo anaerobne bakterije (glavni predstavniki iz rodu *Clostridium* spp. in *Proteus* spp.) (3, 9).

Velik vpliv na hitrost gnitja imajo tudi dejavniki okolja, predvsem zunanja temperatura, vlaga in razpoložljivost kisika ter vrsta mikroorganizmov v okolju, kjer se nahaja truplo (3). Vpliv okoljskih dejavnikov

na gnitje in razpad trupla povzema Casparjevo pravilo, ki pravi, da je hitrost gnitja in razpada trupla na zraku po sedmih dneh ob enaki temperaturi v okolici trupla enaka hitrosti v vodi po 14 dneh in v zemlji po 56 dneh (1:2:8) (9, 11). Temperaturno območje 21–28 °C je najugodnejše za razmnoževanje bakterij in delovanje telesnih encimov. Temperature zunaj omenjenega območja (nižje ali višje) vplivajo na razmnoževanje bakterij in hitrost kemijskih reakcij ter potek gnitja. Pri temperaturi, višji od 26 °C, je proces gnitja močno pospešen in se pokaže že v 24 urah (3). Debelina plasti oblačil sprva ohranja telesno temperaturo trupla in pospešuje proces gnitja, a kasneje preprečuje dostop členonožcev do trupla in s tem upočasnjuje proces gnitja. Neposredna izpostavljenost telesa ali njegovih delov soncu vpliva na telesno temperaturo, izsuševanje trupla in kolonizacijo trupla s členonožci, ki se izogibajo delom telesa, ki so obsijani s soncem. Potopitev v tekočino ali vlažno okolje preprečuje izsuševanje telesa in deluje ugodno na proces gnitja (25).

Na hitrost gnitja vplivajo tudi dejavniki, povezani z osebnimi lastnostmi umrlega in njegovim stanjem pred nastopom smrti. Gnitje pri mlajših in debelejših poteka hitreje kot pri starejših in suhih. Debelina plasti podkožnega maščevja vpliva na hitrost ohlajanja trupla, prav tako tudi hiperemija in tekočina v trebušni votlini (ascites) – vse naštetu pospešuje gnitje. Nasprotno je zaradi izkrvavitve proces gnitja upočasnen, saj so hemoglobin in druge beljakovine krvnih celic glavni vir energije bakterij. Odprte rane so vstopno mesto bakterijam iz okolice, zato je proces gnitja hitrejši. Pri umrlih zaradi sistemskih okužb (predvsem bakterijske seapse oz. plinske gangrene) in malignomov je hitrost gnitja prav tako pospešena (3, 11, 25).

Prvi znaki gnitja so običajno gnilobne lise, ki so posledica bakterijske razgradnje hemoglobina in drugih beljakovin. Barva gnilobnih lis je v veliki meri odvisna od tra-

janja gnitja. Najprej se pojavijo v desnem spodnjem delu trebuha, ki je v bližini slepega črevesa in v katerem je največja koncentracija črevesnih bakterij (3, 26, 27).

Z razpadom beljakovin nastaja žveplovodik (H_2S), ki skozi črevesno steno prehaja v žilne stene in njihove svetline, kjer iztiska sestavine krvi skozi stene ven ter omogoča razsoj bakterij. Zaradi vstopa H_2S v žilje, vezave s hemoglobinom in tvorbe ter sproščanja sulfhemoglobina iz hemoliziranih eritrocitov, se stene ven obarvajo in nastane podkožna gnilobna žilna risba. Obarvajo se zelenkasto, vijolično ali zamolklo rjavkasto, kar je odvisno od količine sulfhemoglobina. V tkivih v okolici žil reagira H_2S z železom v železov sulfid (FeS), kar daje tkivom in koži zelenkasto-sivo obarvanost (3, 26, 27).

Obarvanost spremlja vonj po gnilih jajcih, za kar so poleg H_2S vzrok tudi drugi plini: amonijak (NH_3), ogljikov tetraklorid (CCl_4), vodik (H_2), dušik (N_2), ogljikov dioksid (CO_2), merkaptani in primarni amini, ki nastanejo pri gnilobnem razpadu trupla (3, 26, 27).

Pri gnilobnem razpadu tkiv prihaja tudi do prehajanja gnilobno spremenjenih telesnih tekočin v telesne votline in tkiva. Gnilobni transudat je zaradi razpada sestavin krvi, produktov celičnega razpada oz. zaradi prisotnosti plinov, ki nastajajo pri gnitju, obarvan rdečkasto. Je moten, spenjen ter gnilobnega vonja (3, 26, 27).

Ker se plini ne kopičijo le v votlih organih, ampak tudi v parenhimskih organih in drugih tkivih, končno tudi v tetivah, sklepnih ovojnicah, vezeh in hrustancu, pride do gnilobne napihnenosti trupla ali kadaverškega emfizema (3, 26, 27). Napihnenost tkiv je še posebej izrazita v tkivih z nizkim turgorjem, kot so veke, ustnice, jezik in zunanje spolovilo (9). Med povrhnjico in usnjico se nabirajo motna rdečkasta tekočina in plini, ki povzročijo nastanek mehurjev na koži (3). Končna posledica prepojitve trupla z gnilobnimi plini je pojav gnilobnega giganta (3, 26, 27). Zaradi kopičenja gnilob-

nih plinov dobijo nekateri notranji organi spongiozen videz (npr. podoba švicarskega sira pri mikroskopskem pregledu histološke rezine jeter), pod sluznicami votlih organov nastajajo gnilobni mehurji, lahko pride do iztisnjenja črevesne vsebine, iztekanja gnilobne tekočine iz nosnic, ust, zadnjika in spolovil ali pojava poroda v krsti, če je bila pokojnica noseča (3).

Če so izpolnjeni pogoji, kot so prisotnost bakterij, primerna vlažnost in toplota ter aerobno okolje, se gnitje začne v nekaj dneh po smrti in se konča s skeletizacijo trupla. Vendar je potek gnitja tudi v primeru stalne temperature okolja zelo nepredvidljiv in ne dopušča sklepanj o trajanju posmrtnega intervala (3, 10, 26, 27). Orientacijsko si pri zunanji temperaturi 20–24 °C na površini zemlje in v odsotnosti delovanja členonožcev, gnilobne sprembe trupla sledijo v naslednjem časovnem zaporedju: po enem do dveh dneh zelenkasta obarvanost kože v spodnjem desnem delu trebuha, po dveh do štirih dneh podkožna venska žilna risba, po petih do šestih dneh luščenje vrhnjice, po šestih do osmih dneh izguba pigmenta v zrnati plasti vrhnjice, po 8–14 dneh pojav gnilobnih mehurjev na koži in gnilobnega transudata v telesnih votlinah, pojav gnilobnih plinov v podkožju ter kopičenje gnilobnih plinov v trebušni votlini in ne prej kot po enem mesecu iztekanje vseh tekočin, kolaps notranjih organov in začetek mumifikacije mehkih tkiv zaradi izgube vode (3, 28). Zaporedje pojavljanja gnilobnih sprememb, ki so vidne na truplu in v njegovi notranjosti, je dokaj zanesljiva metoda ocenjevanja posmrtnega intervala le v primeru trupla iz vode, ker se temperatura vode prek dneva in noči ter tudi v daljšem časovnem intervalu zelo malo spreminja (29).

Čas do popolne skeletizacije je odvisen od pogojev v okolju in je zelo različen. Trupla na površini zemlje skeletizirajo v enem letu. Po dveh letih propadejo tudi tetive, sklepne vezi in hrustanci. Zaradi infestaci-

je trupla s črvi je truplo v poletnih mesecih skeletizirano že v dveh do štirih tednih. Po pokopu truplo v zemlji skeletizira v petih do sedmih letih. Čas do skeletizacije trupla je lahko tudi precej daljši, kar je odvisno od sestave zemlje, njene prepustnosti za vodo in zračnosti (9).

Nekatere gnilobne spremembe lahko posnemajo in zakrijejo poškodbe ter njihove posledice, ki so nastale pred nastopom smrti. Zaradi kopičenja gnilobnih plinov v podkožju in napihnjenja trupla lahko spregledamo vdor zraka v podkožje, ki je posledica poškodbe pri še živečem. Rjavo-črno zabarvanje kože, ki je posledica napredovalega gnitja, lahko prikrije predsmrtno nastale podplutbe in druge tope poškodbe ali pa je vzrok njihovi napačni presoji, saj na primer posnema podplutbe, še zlasti v primerih, ko je gnilobna zabarvanost trupla omejena na posamezne dele telesa. Zakrije lahko tudi pred smrtjo nastale spremembe, kot so npr. obrambne ureznine, vbodne ali električne značke. Včasih je mogoče s podplutbami zamenjati tudi podkožno vensko žilno risbo, ki nastane pri gnitju trupla. Prenapihnjenost obraza in izplazenje jezika lahko zavede in posnema znake, ki se razvijejo pri obešenju. Iztekanje gnilobne tekočine, ki je posledica povečanega tlaka v prsni votlini zaradi tvorbe gnilobnih plinov, utekočinjenja tkiv in hemolize, je mogoče zamenjati s krvavitvijo in iztekanjem krvi. Gnilobne mehurje na koži lahko zamenjamo z mehurji, ki včasih nastanejo v stanju kome, npr. pri nekaterih zastrupitvah, kot so zastrupitve z barbiturati, benzodiazepini, teofilinom ali ogljikovim monoksidom (30, 31).

TROHNENJE

Človeško telo je običajno kolonizirano z bakterijsko floro, ki prevladuje v črevesju in na koži, ter glivami, ki se pojavljajo na koži v področju sečil in spolovil ter v črevesju. Glive delimo na plesni, kvasovke in gobe. Najpogostejše kolonizirajo telo glive rodov *Candida*, *Malassezia*, *Trichosporon* in *Tric-*

hophyton ter fakultativno patogeni *Aspergillus*, *Fusarium* in *Mucor* (32, 33). Glive, ki kolonizirajo truplo, običajno ne kolonizirajo živih bitij (34).

Po smrti je kolonizacija trupla z mikroorganizmi, ki normalno kolonizirajo telo med življenjem, in mikroorganizmi iz okolja izrazito pospešena. Vrhnjica se po smrti ne obnavlja in se tudi ne lušči skupaj s sporami plesni in drugih gliv na koži (35). Večinoma se glive, ki sodelujejo pri razpadu trupla, razraščajo v aerobnem okolju na površini kože in v področju odprtih poškodb kože, v prebavilih in drugih telesnih votlinah (1). Vloga gliv, ki se razraščajo na truplu, pri razpadu trupel še ni povsem pojasnjena (34).

Glive lahko vplivajo tudi na spremembe presnove in koncentracijo zdravil ter strupov v truplu. Poleg tega je truplo glivam vir hranilnih snovi (35). V saprofitskem in parazitskem odnosu z drugimi mikroorganizmi si glive zagotavljajo specifična hranila, ki jih sicer same ne morejo sintetizirati, kakor tudi ne sintetizirajo spojin z ogljikom (36). Porabljajo presnovke bakterij, ki sodelujejo v zgodnji fazi razpadanja trupla (37, 38).

Glive, ki sodelujejo pri razpadanju trupla, razvrščamo v dve skupini. V prvo skupino spadajo glive, ki rastejo na podlagi, bogati z dušikom (angl. *ammonia fungi*), vendar lahko kolonizirajo tudi kislo zemljo, v drugi pa glive, ki so naravno prisotne na truplih in zemlji v okolici trupel (angl. *post-putrefactive fungi*) (36, 39).

Sagara in sodelavci (2008) so ugotovili, da se na podlagi, bogati z dušikom, glive iz prve skupine razvijajo v zaporedju: mitosporične glive, ascomicete, basidiomicete. V drugi skupini pa v zaporedju: zigomicete, ascomicete, agaricinske glive z majhnimi basidiomicetami in agaricinske glive z večjimi basidiomicetami (36, 37, 39).

Glive delimo tudi glede na zaporedje njihovega razvoja v glive zgodnje faze, v kateri prevladujejo saprotrofne glive, in pozne

faze, v kateri prevladujejo biotrofne glive. Med njimi lahko najdemo tudi nekrotrofne in občasno saprofitne glive (36).

V alkalni zemlji se amonijak lahko sprošča v okolico spontano in zaradi delovanja mikroorganizmov (36, 37). Zemljo, bogato z amonijakom kot virom dušika, najprej kolonizirajo glive zgodnje faze, ki uspevajo v alkalni sredini, bogati z amonijakom, in te kot saprofiti dobivajo ogljik iz organskih spojin v zemlji. S spremembo vira dušika (tj. s porastom koncentracije nitratov in zakisanjem zemlje) jih nadomestijo glive pozne faze. Te lahko uporabljajo oba vira dušika, uspevajo v kislem okolju in s pomočjo simbiotskega odnosa s koreninami različnih rastlin dobijo potreben ogljik za svoj razvoj (37).

Plesni se pojavijo na truplu približno teden dni po začetku gnitja in sprožijo proces trohnenja, ki nadomesti gnitje (40, 41). Na truplu nastanejo sive, bele, zelene, mo-

dre ter rdeče obloge in plitve razjede (slika 1) (11). V fazi gnitja truplo kolonizirajo glive iz rodov *Aspergillus*, *Penicillium* ter *Candida*, vendar so med 144 različnimi glivami odkrili tudi dve vrsti iz rodu *Mucor*, ki se poleg gliv iz rodu *Apergillus* in *Penicillium* pogosteje pojavljajo na skeletiziranih ostankih trupel (42). Natančnih podatkov o dinamiki rasti plesni na truplih v okoljih z različno temperaturo in vlago še ni (43). V raziskavi Ten Broeka in sodelavcev (2009) je bilo ugotovljeno, da so se vrste gliv iz rodov *Mucor* pojavile osmi dan po pokopu, *Penicillium* 28. dan po pokopu in glive iz rodu *Aspergillus* 40. dan po pokopu (44). V številnih drugih raziskavah so najpogosteje ugotovili prisotnost gliv iz rodu *Aspergillus* in/ali *Penicillium*, včasih ob prisotnosti gliv iz rodu *Candida* in/ali *Mucor* (14, 33, 43–46).

Razraščanje plesni na truplih, pokopanih v zemlji, je počasnejše kot na truplih, ki ležijo na površini zemlje (1). Zlasti v hlad-



Slika 1. Razraščanje plesni po mumificiranih truplih.

nejšem okolju plesni pogosto kolonizirajo tudi mumificirana trupla (40, 41).

Po treh do štirih letih preide trohnenje v proces skeletizacije, ki je končni proces razgradnje trupla. Po približno petih do desetih letih se v suhem okolju razgradijo še organske snovi v kosti, zato kost postane lahka in krhka (11).

Glive bi lahko imele v kazenskih primerih pomembno vlogo pri določanju časovnega intervala smrti in pri dokazovanju premeščanja trupla po smrti z ene lokacije (npr. kraja kaznivega dejanja), na drugo lokacijo (najdišče trupla) (46). Posmrtni interval je mogoče določiti s pomočjo identifikacije vrste gliv na truplu in poznavanjem dinamike njihove rasti, čeprav je zaradi velikega vpliva temperature in vlage v okolju to določanje težavno (43). Pomembno je vedeti, da ima vsaka gliva posebne zahteve glede prehrane in habitata. Specifične združbe gliv se zato razvijajo v različnih področjih in dokaz združbe gliv na truplu, ki niso značilne za področje, kjer je truplo najdeno, lahko kaže na to, da je bilo truplo po smrti premeščeno (43, 47). Omejitev predstavlja dejstvo, da so glive običajno najdene v zelo majhnih količinah, kot dokazni material pa so potrebne večje količine (43).

Kljub potencialni uporabnosti dokazovanja gliv v kazenskih postopkih je znan le en primer, pri katerem so s ciklom razvoja gliv dejansko dokazali čas smrti (6).

MUMIFIKACIJA

Angleška beseda *mummy* izvira iz latinske besede *mumia* – ta izhaja iz arabske besede *mūmiya* in nadalje perzijske besede *mūm*, ki pomeni vosek (48). Mumifikacija je konzervirajoča mrliška sprememba, ki se običajno začne še pred začetkom procesa gnitja (3, 49, 50). Ločimo dva načina poteka mumifikacije, primarno in sekundarno mumifikacijo. Pri primarni do gnitja ne pride in je truplo izredno dobro ohranjeno (tudi dlake), sekundarna pa se razvije iz začetnega gnitja (51).

Proces mumifikacije je lahko naključen in naraven (sprožen zaradi podnebnih razmer v okolju) ali načrten in umeten (sprožen z namenom ohranitve trupla) (11, 52). Mumificirana trupla oz. njihove ostanke so našli že na vseh celinah sveta kot posledico različnih kulturnih značilnosti posameznih okolij ali naravne mumifikacije. Ohranila so se kljub zelo različnim podnebnim pogojem za njihov nastanek (52). Načrtna mumifikacija je bila poleg starega Egipta del kulture tudi v delih južne Afrike in predvsem Azije, kjer prevladuje suho in za mumifikacijo ugodno podnebje. Najstarejša do sedaj odkrita mumija, ocenjena na leto 5050 pred našim štetjem, je mumija otroka iz doline Camarones v Čilu (53).

V našem geografskem prostoru je najdba naravno mumificiranih trupel zaradi vremenskih pogojev redkost, saj je značilna za področja s toplim ali zelo hladnim in suhim podnebjem (49, 54). Izjema je množično grobišče v rovu sv. Barbare v Hudi Jami, kjer je zaradi specifičnih pogojev v jami prišlo do množične mumifikacije trupel (slika 1) (55).

Na trajanje procesa mumifikacije vplivajo podnebni pogoji in telesna površina ter nahajališče trupla. Vpliv na hitrost mumifikacije trupla ima tudi telesna masa in delež telesne maščobe (41). Mumifikacija trupla novorojenčka je lahko v suhem in toplem okolju hitra zaradi majhne telesne površine in mase trupla ter majhnega števila bakterij v črevesju novorojenčka (56). Znanj so primeri, pri katerih je do mumifikacije prišlo v osmih dneh v suhem in ogrevanem stanovanju ter v desetih dneh na prostem. Tudi kronični zastrupitvi z arsenikom in antimonom lahko vplivata na hitrost mumifikacije. Po nastopu mumifikacije se proces običajno zaključi v obdobju med tremi meseci in enim letom (41).

V procesu mumifikacije se dobro ohranijo tkiva z veliko količino kolagena (npr. koža, mišične ovojnice, tetive) in do različne stopnje tudi druga mehka tkiva. Posledica izsušitve so skrčeni, lahko morfološko ne-

razpoznavni, razpadli organi (npr. prebavila) (49, 57).

Encimi, ki se zaradi spremenjenih lastnosti in razpada membran po smrti sprostijo iz celic, potrebujejo za svoje delovanje vodno okolje. V okoliščinah in stanjih organizma, pri katerih pride do izgube vode iz trupla, ne sodelujejo pri razpadanju trupla (52). Pomanjkanje telesne vode zaradi izsušitve ali zmrznjenosti oz. anaerobno mikrookolje v okolici trupla so okoliščine, ki vodijo v naravno mumifikacijo (41, 49). Zaradi gibanja zraka nad truplom v vetrovnem ali podobnem okolju in/ali oblačil na truplu ter izgube telesne vode pred smrtjo (dehidracija) pride do izsuševanja trupla, ki pospešuje naravno mumifikacijo (41, 58, 59).

Naravna mumifikacija trupla je pogosta v zračnih in toplih okoljih, kot so skednji, podstrešja in prostori pod deskami lesenih hiš (11, 59). Prav tako pride do mumifikacije tudi v mrzlem in suhem okolju, npr. snegu in ledu, kjer ne more priti do raz-

raščanja bakterij in procesa gnitja (11). V katakombah ali podzemeljskih kriptah cerkva in samostanov so takšni pogoji ustvarjeni umetno (41).

V mokrem okolju, npr. šotnem barju, je proces mumifikacije izjema in nastane kot posledica razgradnje šotnega mahu. Pri tem pride do padca pH vode, pomanjkanja kisika, vezave kalcijevih ionov in inaktivacije bakterijskih encimov ter zaustavitve razraščanja bakterij (52). Zaradi prisotnosti huminske kisline pride v šotnem barju do demineralizacije kosti, ustrojenja kože in tipično rdečkastega obarvanja las na truplu (9).

Znani so tudi primeri mumifikacije in ohranitve trupla, ki je bilo zavito v plasti ovojev iz tkanine in plastike – pri takih so bila mehka tkiva tudi več let po smrti dobro ohranjena. Amonijak in alkohol, ki ga bakterije tvorijo v procesu začetka gnitja trupla, povzročita padec pH v zraku med plastmi ovojev in v tkivih trupla. Razmnoževanje bakterij se po začetnem zagonu za-



Slika 2. Primarno mumificirana trupla.

radi spremembe mikrookolja postopno ustavi in sledi izsuševanje trupla ter proces mumifikacije (41, 60).

Izsuševanje trupla se najprej začne na delih telesa, ki vsebujejo najmanj vode in so običajno najmanj zaščiteni s sloji oblačil: prsti rok, nog, lica, nosnice, senčni del glave in mošnja pri moških (3). V začetni fazi izsuševanja trupla se lahko zdi, da truplu rastejo lasje, brada in nohti. Truplo med sušenjem izgubi 69–77 % telesne teže in postane trdo in krhko. V takšnem stanju se ohrani več let ali celo desetletij (60). Zaradi vpliva fizikalnih procesov in delovanja žuželk (zlasti moljev) večš in ličink nekaterih muh, ki pripomorejo k razpadu mumificiranih trupel, trupla postopoma razpadejo v prah (41, 60).

Mumificirano truplo je pokrito s tanko suho in ponekod razpokano kožo, ki je tesno napeta preko prominentnih delov telesa, kot so veliki sklepi rok ter nog (komolčni, kolčni) in obraznih kosti (brada, ličnici) (10, 59). Koža izgubi prvotno barvo in se obarva rjavkasto oz. zaradi sekundarnega razraščanja plesni belo, zeleno ali črno (11, 59). Zgornji udi trupla so v nasprotju s spod-

njimi pogosto v odročenju v ramenskem sklepu, pokrčeni v komolčnem sklepu in zaplestih ter s prsti, skrčenimi v pest, medtem ko so spodnji iztegnjeni in redko pokrčeni v sklepih. Takšen položaj zgornjih udov je posledica skrajševanja mišic in tetiv v procesu izsuševanja (slika 3) (61).

Kljub mumifikaciji je včasih mogoča tudi prepoznavna trupla. Največjo oviro neposredni prepoznavi obraza poleg izsušitve trupla predstavlja izguba oči in spremenjena oblika ustnic, ki vplivata na spremenjene poteze obraza (11). Za identifikacijo trupla so uporabne tudi ohranjene tetovaže na delih telesa z ohranjenimi deli kože (10). Prstnih odtisov se po izsušitvi telesa večinoma ne da več identificirati. Kljub temu so znani primeri, ko so z različnimi tehnikami pridobili delne ali celo popolne prstne odtise (62). Odrgrnin in drugih manjših poškodb kože, nastalih pred smrtjo, pogosto ni mogoče najti zaradi razbarvanja, glivičnih sprememb na koži ter kožnih artefaktov (59).

Pri pregledu mumificiranih trupel moramo biti pozorni, da ne zamenjamo poškodb, nastalih pred smrtjo, in razpok, nastalih za-



Slika 3. Tipične spremembe mumificiranega trupla z ohranjenimi dlakami.

radi sušenja kože. Razpoke kože so najpogostejše v predelu pod pazduho, v dimljah in pod vratom (60). Tudi artefaktov, ki nastanejo na mumificiranih truplih zaradi delovanja ličink muh in se zaradi skrčenja kože lahko precej povečajo, ne smemo zamenjati z vbodnimi ranami ali vstrelnimi ranami, povzročenimi npr. s šibrovko (31, 59). Tkiva mumificiranih trupel lahko za nadaljnje histološke preiskave zmehčamo z namakanjem v 15-odstotni raztopini glicerina, ali v 20-odstotni raztopini polietilen glikola v kontroliranem kislinsko-baznem okolju s pH = 8,0 z dodatkom 1-odstotne raztopine sterikola, ki inhibira rast bakterij (11). S histološko preiskavo je v takšnih primerih mogoče ugotoviti bronhopnevmonijo, jetrno cirozo ali maligno novotvorbo (59).

SAPONIFIKACIJA

Količina telesne maščobe je običajno do 10 % telesne teže pri moških in do 20 % pri ženskah. Glede na delež njegove teže maščobno tkivo vsebuje 5–30 % vode, 2–3 % beljakovin, 59–85 % lipidov, od tega 90–99 % trigliceridov (1). Maščobne kisline so v maščevju količinsko zastopane v zaporedju: mononenasičena oleinska kislina, palmitinska, linolna, stearinska, palmitoleinska in miristična kislina (63).

Proces, v katerem nastane vosku podobna snov (mrliški vosek ali *adipocere*), je saponifikacija (9). Ime izhaja iz latinske besede *adepts* (maščoba) in *cire* (vosek) (3, 64). Saponifikacija je oblika naravne mumifikacije in vrsta konzervirajoče mrliške spremembe (3, 9, 65, 66).

Med razpadom trupla poteka obsežna hidroliza in hidrogenacija maščob ter tvorba prostih maščobnih kislin. Tkivne lipaze po smrti hidrolizirajo trigliceride v glicerol in proste maščobne kisline (1). Dokler je na razpolago kisik, poteka bakterijska oksidacija v biofilmih, ki jih bakterije delajo na površini trupla. Po kolonizaciji z bakterijami poteka fermentacija v trebušni votlini ter dihalnih poteh, kjer ni kisika. V procesu oksidacije pri-

de do popolne in v procesu fermentacije do nepopolne razgradnje organskih snovi trupla. Proces potekata istočasno (67).

V prisotnosti zraka, bakterij in gliv poteka β -oksidacija sproščenih maščobnih kislin in tako nastajajo maščobne kisline s kratkimi verigami, aldehidi in ketoni ter končna produkta ogljikov dioksid in voda (1). Z bakterijsko fermentacijo ne pride do popolne razgradnje maščobnih kislin. Nastajajo polihidroksi maščobne kisline, ki so zelo stabilne, niso topne v vodi in sodelujejo pri nastanku mrliškega voska (67).

Mrliški vosek sestavljajo nasičene maščobne kisline ($C_{16:0} > C_{18:0} > C_{14:0}$), Na^+ , K^+ , Ca^{2+} in Mg^{2+} mila, hidroksi in okso maščobne kisline ter polihidroksilirane maščobne kisline (67, 68). Hitrost nastanka mrliškega voska je odvisna od pogojev v okolju trupla (11, 59, 69, 70). Saponifikacija poteka predvsem v vlažnem oz. s padavinami bogatem okolju (62, 65, 69). Pri tvorbi mrliškega voska sodelujejo bakterije in encimi, ki za svoje razmnoževanje in delovanje potrebujejo vodo (41, 65). Poleg visoke relativne vlage in prisotnosti telesnega maščevja mora biti truplo tudi v okolju z majhno vsebnostjo zraka (3, 66, 70–72). Saponifikacija je v prisotnosti zraka zavrt in namesto saponifikacije potekajo procesi gnitja (65, 66).

Za nastanek mrliškega voska zadostuje že voda, ki jo vsebuje telesno maščevje, zato lahko saponifikacija poteka tudi v suhem okolju in mrliških vrečah (65, 69). V kislem okolju in pri temperaturah pod 10 °C je proces gnitja zavrt in lahko pride do saponifikacije, če so izpolnjeni tudi vsi ostali pogoji za tvorbo mrliškega voska (73). Če je truplo potopljeno v vodi ali leži v vlažni ali ilovnati zemlji, se lahko saponifikacija začne že v nekaj dneh po smrti (13). V manj ugodnih razmerah poteče šele v nekaj mesecih ali celo letih (11, 59). Običajno se začne med 3. in 12. mesecem po smrti (11, 65). V primeru kolonizacije trupla s členonožci ali v primeru, ko imajo členonožci pred pokopom dostop do trupla,

običajno ne pride do saponifikacije (31). Visoka relativna vlažnost okolja je pomembna, ker molekule vode odstranjujejo glicerol, ki nastaja s hidrolizo maščob (74).

Tvorba mrliškega voska se praviloma začne po enem do dveh mesecih, če je truplo v toplejši vodi (9, 31). V vodi je dobro izražena po petih do šestih mesecih in v zemlji po treh letih (25).

Zaradi razmeroma večje količine podkožnega maščevja naletimo na tvorbo mrliškega voska pogostejše pri truplih žensk, novorojenčkah in debelih ljudeh (73). Najpogostejše saponifikacija zajame področja, bogata s podkožnim maščevjem, kot so lica, ocnice, prsni koš, trebuh in trebušna votlina ter zadnjica (11).

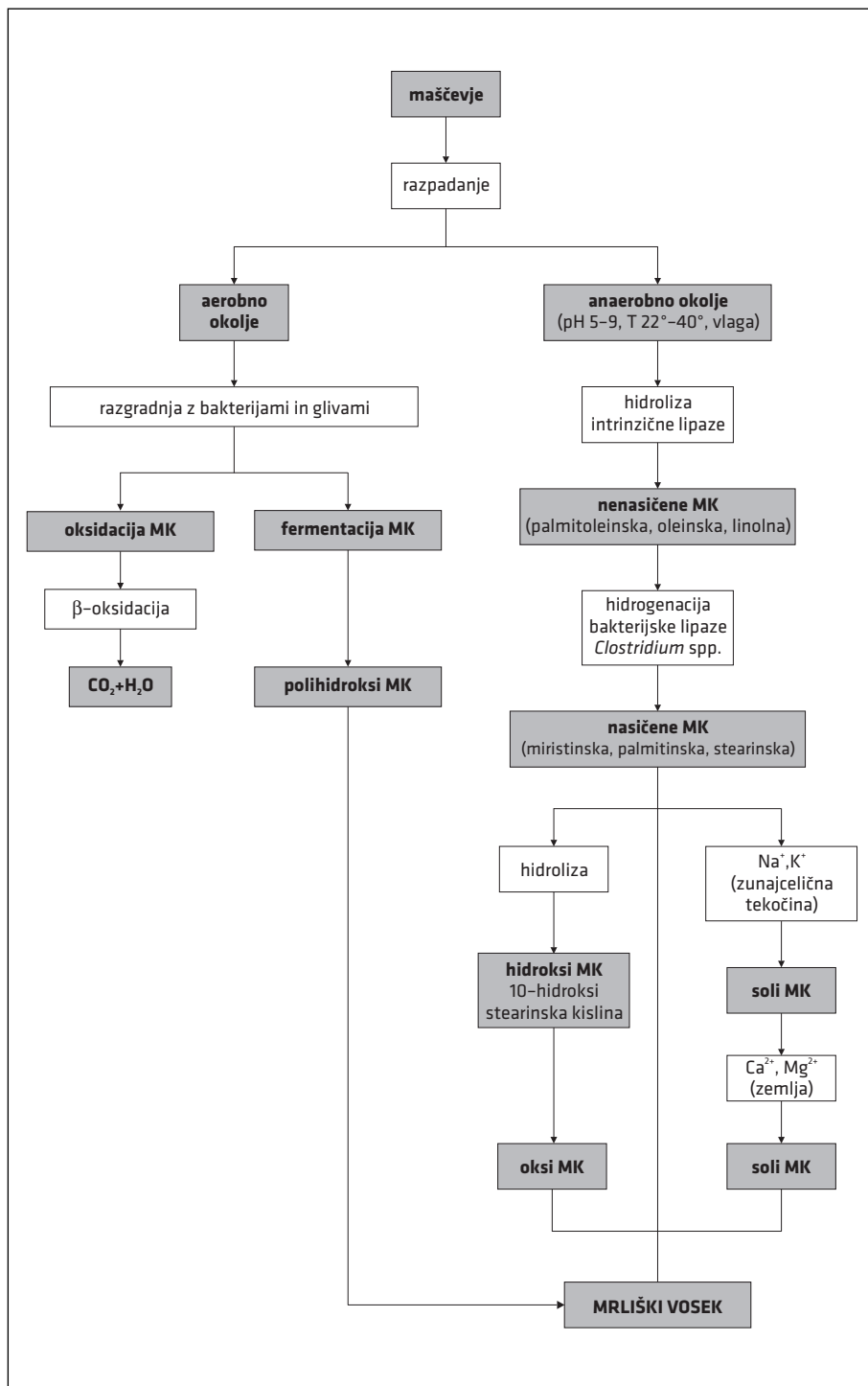
Po šestih tednih se saponifikacija začne v podkožju in po treh do štirih mesecih v mišicah (9). Proces saponifikacije poteka s površine trupa proti njegovi notranjosti. Začne se v foliklih dlak, lojnicah in znojnicah v podkožju (25). Druge plasti kože propadejo (11, 71). Površina telesa postane sivobelkasta, brezstrukturna in milnata, lasje in dlake izpadejo (13, 25). Ker nevtralnih maščob po hidrolizi maščevja pronica s površine telesa v telesne votline, saponifikacija zajame tudi notranje organe ne glede na količino lipidov, ki jo vsebujejo. Ko je vosek ustvarjen, se lahko ohrani v nespremenjeni obliki več stoletij (31). Zaradi netopnosti višjih maščobnih kislin z 12–20 ogljikovimi atomi ter visoke temperature tališča hidroksi in okso maščobnih kislin je mrliški vosek zelo odporen na razgradnjo (68). V anaerobnih pogojih razgradnja mrliškega voska ni mogoča, ker ne more priti do fermentacije maščobnih kislin (67).

Mrliški vosek je makroskopsko viden, ko odstotek nastalih maščobnih kislin naraste na več kot 69 % (73). Lahko je bele, rožnate, rjavkaste ali sivkaste barve, v zgodnjem obdobju voskaste konsistence in neprijetnega sladkobnega vonja, ki ga primerjajo z vonjem amonijaka, sira ali zemlje (3, 25, 70, 71). V vodi ni topen. Topen je v al-

koholih in etrih (73). Je vnetljiv in gori z rumenim plamenom (11, 74). Po izsušitvi na zraku je trde konsistence, podoben kredy in krhek kot mavčeva plošča (3, 11, 25, 70, 74). Mrliški vosek je dokaj obstojen in odporen na razgradnjo s pomočjo kemikalij ter delovanje bakterij, ker sprememba pH v okolju zavira njihovo razmnoževanje (70, 74). Najpomembnejši dejavnik razpada mrliškega voska je izpostavljenost zraku in prisotnost grampozitivnih bakterij v okolju (13, 59, 70, 72).

Mrliški vosek nastane s hidrolizo in hidrogenacijo telesnih maščob, katerih glavna sestavina so trigliceridi. Hidrolizo sprožijo intrinzične lipaze, ki razgrajujejo nevtralne maščobe na glicerol in proste maščobne kisline (1, 61). V zgodnjem obdobju tvorbe mrliškega voska pride do padca nenasičenih (zlasti oleinske kisline) in porasta nasičenih maščobnih kislin (zlasti palmitinske kisline) (70). Ker so celične membrane prepustne za vodo, se voda po smrti zbira v celicah in celice počijo. Maščobne kisline se sprostijo iz celic. Bakterijska lecitinaza je encim, ki razgrajuje celične membrane in iz celic sprošča maščobne kapljice nevtralnih maščob ter omogoča hidrogenacijo maščobnih kislin in tvorbo 10-hidroksi maščobnih kislin (72, 75). Izloča jo anaerobni *Clostridium perfringens*, ki ima najpomembnejšo vlogo za nastanek mrliškega voska (11, 70, 71, 76). Tudi številne različne vrste drugih bakterij so sposobne spreminjati oleinsko kislino v 10-hidroksi-stearinsko kislino, ki je glavna komponenta mrliškega voska (72, 75). Pri tvorbi voska sodelujejo tudi druge gramnegativne bakterije iz rodov *Pseudomonas*, *Serratia*, *Alcaligenes* in *Enterobacter*. V zgodnjem obdobju nastajanja mrliškega voska je pomembna prisotnost anaerobnih grampozitivnih bakterij, v kasnejšem obdobju pa prevladajo gramnegativne bakterije (70).

S hidrolizo iz ene molekule triglicerida nastanejo tri molekule nenasičenih maščobnih kislin (palmitoleinska, oleinska



Slika 4. Pogoji in procesi pri razpadanju maščevja ter nastanku mrliškega voska. T – temperatura, MK – maščobne kisline, CO₂ – ogljikov dioksid, H₂O – voda.

in linolna kislina) ter glicerol (72). Nastanek maščobnih kislin povzroči padec pH na 5,5–4,5, zato se ustavijo procesi gnitja (74). Maščobne kisline reagirajo z ioni natrija ali kalija iz zunajcelične in celične tekočine. Pri truplih v vodi ali zemlji lahko pride do kationske zamenjave, pri čemer so natrijevi in kalijeji ioni zamenjani s kalcijevimi ali magnezijevimi ioni, in tvorbe soli maščobnih kislin (slika 4) (72, 75).

Nenasičene maščobne kisline se v procesu hidrogenacije pod vplivom bakterijskih encimov spremenijo v nasičene maščobne kisline (miristinska, palmitinska in stearinska kislina) (69, 72). Končno obliko mrliškega voska sestavljajo palmitinska, stearinska, miristinska, oleinska in palmitoleinska kislina. Nahajajo se v različnih koncentracijah, ki so odvisne predvsem od okolja (72, 75). Običajno je prevladujoča nasičena maščobna kislina v mrliškem vosku palmitinska kislina, ki je produkt hidrogenacije in β -oksidacije nenasičenih maščobnih kislin v telesnem maščevju. Oleinska ter palmitoleinska kislina sta pretvorjeni v slabše topni palmitinsko in miristično kislino (69). Hidrogenacija poviša tališče maščobnih kislin, zato maščobne kisline pri temperaturi okoli 16 °C kristalizirajo (72, 75).

Mrliški vosek po kristalizaciji maščob dobi čvrstjšo konsistenco in ohranja morfološke značilnosti telesa ter notranjih organov in lahko pripomore k identifikaciji umrlega (slika 5) (13, 71, 72, 75). Zato so tudi poškodbe na telesu ali poškodbe notranjih organov (strelne rane, zlom podjezičnice) vidne še desetletja po smrti žrtve, kar je izrednega pomena pri določanju vzroka smrti (slika 6) (13, 71). Mogoče so tudi toksikološke preiskave. Tako so dokazali prisotnost toksičnih odmerkov toluena in diatomej v tkivih po prometni nesreči in utopitvi žrtve (77).

ZAKLJUČEK

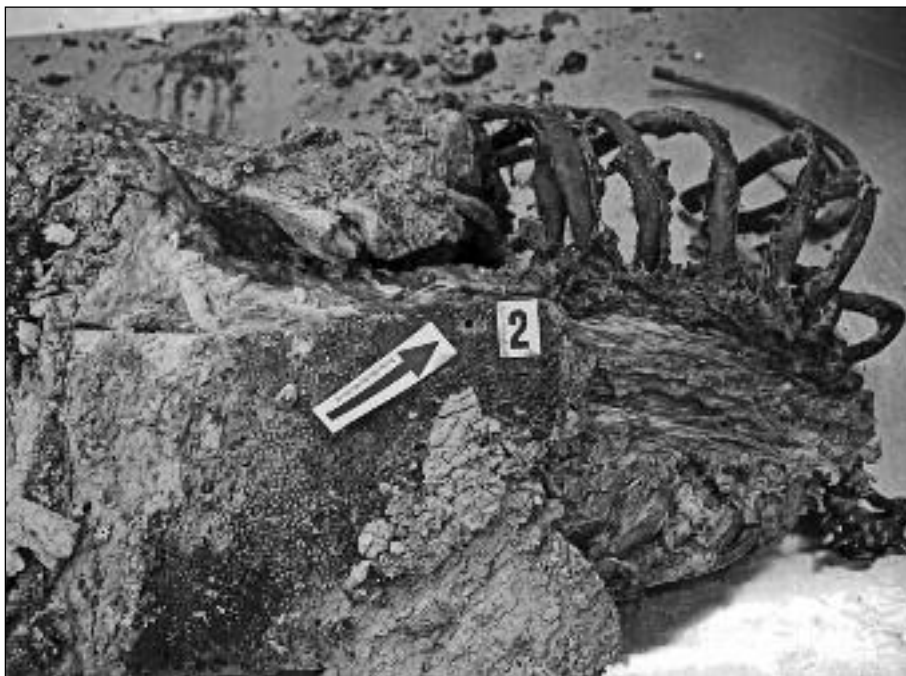
Pozne mrliške spremembe sledijo pojavu zgodnjih mrliških sprememb, vendar med

pojavom enih in drugih ni ostre časovne ločnice. Pojav poznih mrliških sprememb na truplu je odvisen od dejavnikov okolja, v katerem se truplo nahaja. Pogosto naletimo na delih trupla na različne pozne mrliške spremembe, ker so za njihov nastanek najpomembnejši dejavniki v njihovem mikrokolju.

Ocena posmrtnega intervala, tj. časa od smrti do najdbe trupla, je tudi sicer zahtevna naloga in včasih določljiva šele ob pomoči drugih okoliščin najdbe trupla. Prisotnost različnih poznih mrliških sprememb na delih istega trupla jo še otežuje. Nekatere pozne mrliške spremembe zakrijejo poškodbe, nastale v času pred smrtjo, in tudi poškodbe, ki so povezane z vzrokom smrti. Po drugi strani jih saponifikacija ohrani in so vidne še daljši čas po smrti. Med procesom razvoja poznih mrliških sprememb na truplu prihaja tudi do tvorbe artefaktov, ki jih lahko zamenjamo s poškodbami, ki so nastale pred smrtjo. Tudi v pro-



Slika 5. Ohranjenost podobe obraza po saponifikaciji trupla.



Slika 6. Saponifikacija trupla in vstrelna rana na hrbtu trupla.

cesu prepoznavne posameznika lahko odigrajo pomembno vlogo.

Razumevanje mehanizma in predvsem okoliščin nastanka artefaktov, ki so posledica poznih mrliških sprememb, ter njihovo prepoznavanje, predvsem pa njihova pravilna razlaga, lahko odločilno pomagajo pri nadaljnji obravnavi okoliščin smrti pokojnega, pravilni intervalni oceni časa nastopa smrti in usmerjanju nadaljnje obravnave smrti pokojnika, tudi s strani drugih v obravnavo smrti vključenih služb.

Sodelovanje zdravnika (če je mogoče, z opravljeno specializacijo s področja sodne medicine) oz. mrliškega preglednika z ustreznim znanjem s področja je nujno potrebno na ogledu najdišča trupla, če gre za smrt v sumljivih okoliščinah ali smrt kot posledico kaznivega dejanja zoper življenje in telo. Še posebej je pomembno, ko je posmrtni interval relativno dolg in je prišlo do napredovanja mrliških sprememb, saj lahko pripomore k pravilni razlagi sprememb na truplu in nadaljnjemu usmerjanju obravnave kraja in dogodka.

LITERATURA

1. Dent BB, Forbes SL, Stuart BH. Review of human decomposition process in soil. *Environmental Geology*. 2004; 45 (4): 576–85.
2. Janaway RC, Percival SL, Wilson AS. Decomposition of human remains. In: S. L. Percival SL, ed. *Microbiology and Aging*. New York: The Humana Press; 2009. p. 313–34.
3. Krause D. Leichenveränderungen. In: Brinkmann B, Madea B, eds. *Handbuch gerichtliche Medizin*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 2004. p. 150–70.
4. Swann LM, Forbes SL, Lewis SW. Analytical separations of mammalian decomposition products for forensic science: a review. *Anal Chim Acta*. 2010; 682 (1–2): 9–22.
5. Hopkins, D. W. The role of soil organisms in terrestrial decomposition. In: Tibbett M, Carter DO, eds. *Research in forensic taphonomy: A soil-based perspective*. Criminal and Environmental Soil Forensics. Bradford: Springer Science & Business Media; 2009. p. 317–31.
6. Carter DO, Tibbett M. Cadaver decomposition and soil: processes. In: Tibbett M, Carter DO, eds. *Soil analysis in forensic taphonomy: chemical and biological effects of buried human remains*. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2008. p. 29–51.
7. Spicka A, Johnson R, Bushing J, et al. Carcass mass can influence rate of decomposition and release of ninhydrin-reactive nitrogen into grave soil. *Forensic Sci Int*. 2011; 209 (1–3): 80–5.
8. Zhou C, Byard RW. Factors and processes causing accelerated decomposition in human cadavers - An overview. *J Forensic Leg Med*. 2011; 18 (1): 6–9.
9. Madea B, Henssge C, Reibe S, et al. Postmortem changes and time since death. In: Madea B, ed. *Handbook of Forensic Medicine*. West Sussex: Wiley Blackwell; 2014. p. 75–133.
10. Berg S. Leichenzerersetzung und Leichenzerstörung. In: Mueller B, ed. *Gerichtliche Medizin, Bd 1*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 1975. p. 62–106.
11. Saukko P, Knight B. *Knight's Forensic Pathology*. (4th ed.). Boca Raton: CRC Press: Taylor & Francis Group; 2016.
12. Poloz YO, O'Day DH. Determining time of death: temperature-dependent postmortem changes in calcineurin A, MARCKS, CaMKII, and protein phosphatase 2A in mouse. *Int J Legal Med*. 2009; 123 (4): 305–14.
13. Ubelaker DH, Zarenko KM. Adipocere: what is known after over two centuries of research. 2011; 208 (1–3): 167–72.
14. Wilson AS, Janaway RC, Holland AD, et al. Modelling the buried human body environment in upland climes using three contrasting field sites. *Forensic Sci Int*. 2007; 169 (1): 6–18.
15. Pravilnik o pogojih in načinu opravljanja mrliške pregledne službe. Uradni list RS št. 56/1993.
16. Jevšek A. The concept of an optimum model of criminal post-mortem diagnostics. *Revija za kriminalistiko in kriminologijo*. 2014; 4: 336–46.
17. Japelj B. Kriminaliteta v Sloveniji leta 2015. *Revija za kriminalistiko in kriminologijo*. 2016; 2: 140–70.
18. Rakočević V. Research on issue of detection, solving and evidence collecting in cases of professionally executed murders. *Revija za kriminalistiko in kriminologijo*. 2016; 4: 348–57.
19. Enwere P. Taphonomy of child-sized remains in shallow grave and surface deposit scenarios [doktorsko delo]. San Marcos (USA): Texas State University; 2008.
20. Shirley NR, Wilson RJ, Jantz LM. Cadaver use at the University of Tennessee's Anthropological Research Facility. *Clin Anat*. 2011; 24 (3): 372–80.
21. Paczkowski S, Schütz S. Post-mortem volatiles of vertebrate tissue. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011; 91 (4): 917–35.
22. Carpenter HM, Wilkins RM. Autopsy bacteriology: review of 2,033 cases. *Arch Pathol*. 1964; 77: 73–81.
23. Kuklinca AG, Cavan TL. Anaerobic bacteria in postmortem blood cultures. Correlation with lesions of the gastrointestinal tract. *Cleveland Clinical*, 1971; 38 (1): 5–11.
24. Janaway RC. The decay of buried human remains and their associated materials. In: Hunter J, Roberts C, Martin A, eds. *Studies in Crime: An Introduction to Forensic Archaeology*. London: Batsford; 1996. p. 58–85.
25. Vuković R. Znaci smrti. In: Tasić M, ed. *Sudska medicina*. Novi Sad: Zmaj d.o.o.; 2007. p. 353–72.
26. Gill-King H. Chemical and ultrastructural aspects of decomposition. In: Sorg MH, Haglund WD, eds. *Forensic Taphonomy: The post-mortem fate of human remains*. Boca Raton, London, New York, Washington DC: CRC Press; 1996. p. 93–108.
27. Vass, AA, Barshick SA, Segal, et al. Decomposition chemistry of human remains: a new methodology for determining the postmortem interval. *J Forensic Sci*. 2002; 47 (3): 542–53.
28. Berg S. Todeszeitbestimmung in der spätpostmortalen Phase. In: Brinkmann B, Madea B, eds. *Handbuch gerichtliche Medizin*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 2004. p. 191–204.

29. Reh H. Diagnostik des Ertrinkungstodes und Bestimmung der Wasserzeit. Düsseldorf: Triltsch; 1969.
30. Rutty GN. Postmortem changes and artefacts. In: Rutty GN, ed. Essentials of Autopsy Practice, Vol. 1. London: Springer; 2001. p. 63–95.
31. Tsokos M. Postmortem changes. In: Payne-James J, Byard RW, T. S. Corey TS et al., eds. Encyclopedia of Forensic and Legal Medicine. Oxford: Elsevier Ltd; 2005. p. 456–76.
32. Cohen R, Roth FJ, Delgado E, Ahearn DG, et al. Fungal flora of the normal human small and large intestine. N Engl J Med. 1969; 280 (12): 638–41.
33. Martínez-Ramírez JA, Strien J, Sanft J, et al. Studies on drug metabolism by fungi colonizing decomposing human cadavers. Part I: DNA sequence-based identification of fungi isolated from postmortem material. Anal Bioanal Chem. 2013; 405 (26): 8443–50.
34. Carter DO, Yellowlees D, Tibbett M. Cadaver decomposition in terrestrial ecosystems. Naturwissenschaften. 2007. 94 (1): 12–24.
35. Tibbett M, Carter DO. Mushrooms and taphonomy: the fungi that mark woodland graves. Mycologist. 2003; 17 (1): 20–2.
36. Carter DO, Tibbett, M. Taphonomic mycota: fungi with forensic potential. J Forensic Sci. 2003. 48 (1): 168–71.
37. Sagara N, Yamanaka T, Tibbett M. Soil fungi associated with graves and latrines: toward a forensic mycology. In: Tibbett M, Carter DO, eds. Soil analysis in forensic taphonomy: chemical and biological effects of buried human remains. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2008. p. 67–107.
38. Haelewaters D. *Hebeloma*, pioneer genus in forensic mycology. Fungi. 2013; 6 (3): 47–8.
39. Suzuki A. Propagation strategy of ammonia fungi. Mycoscience. 2009; 50: 39–51.
40. Lew E, Matshes E. Postmortem changes. In: Dolinak D, Matshes E, Lew E, eds. Forensic pathology. Burlington, San Diego, London: Elsevier Academic Press; 2005. p. 527–54.
41. Vardanyan ShA, Avagyan KK. Forensic medicine. Post-mortem changes. [internet]. c2006 [citirano 18 Jan 27]. Dosegljivo na: <http://www.docstoc.com/docs/49446353/POST-MORTEM-CHANGES-abdominal-distension>
42. Sidrim JJ, Moreira Filho RE, Cordeiro RA, et al. Fungal microbiota dynamics as a postmortem investigation tool: focus on *Aspergillus*, *Penicillium* and *Candida* species. J Appl Microbiol. 2010; 108 (5): 1751–6.
43. Hawksworth DL, Wiltshire PE. Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. Forensic Sci Int. 2011; 206 (1–3): 1–11.
44. Ten Broek, CMA. Postmortem degradation of articular cartilage and fungal succession on buried pig trotters: exploring possibilities in the field of forensic taphonomy [magistrsko delo]. Wolverhampton (UK): University of Wolverhampton; 2009.
45. Huculak MA, Rogers TL. Reconstructing the sequence of events surrounding body disposition based on color staining of bone. J Forensic Sci. 2009; 54 (5): 979–84.
46. Hitosugi M, Ishii K, Yaguchi T, et al. Fungi can be a useful forensic tool. Leg Med (Tokyo). 2006; 8 (4): 240–2.
47. Wiltshire, PEJ. Forensic ecology, botany, and palynology: some aspects of their role in criminal investigation. In: Ritz K, Dawson L, Miller D, eds. Criminal and Environmental Soil Forensics. Amsterdam: Springer Science + Business Media BV; 2009. p. 129–49.
48. Online Etymology Dictionary. Mummy [internet]. Hangzhou: Hangzhou Maoning Tech LTD; c2001–2018 [citirano 18 Jan 28]. Dosegljivo na: <http://www.etymonline.com/>
49. Lynnerup N. Mummies. Am J Phys Anthropol. 2007; Suppl 45, 162–90.
50. Jit I, Sehgal S, Sahni D. An Indian mummy: a case report. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sehgal+S.%2C+Sahni+D.+An+Indian+mummy%3A+a+case+report> 2001; 117 (1–2): 57–63.
51. Tsokos M. Postmortem changes and artifacts occurring during the early postmortem interval. In: Tsokos M, ed. Forensic Pathology Reviews, Vol. 3. Totowa NJ: Humana Press; 2005. p. 183–237.
52. Aufderheide AC. The Scientific Study of Mummies. Cambridge: Cambridge University Press; 2011.
53. Bartkus L, Amarasiwardena D, Arriata B, et al. Exploring lead exposure in ancient Chilean mummies using a single strand of hair by laser ablation inductively coupled plasma spectrometry (LA-ICP-MS). Microchem J. 2011; 98 (2): 267–74.
54. Henssge C, Madea B. Leichenerscheinungen und Todeszeitbestimmung. In: Brinkmann B, Madea B, eds. Handbuch gerichtliche Medizin. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 2004. p. 79–150.
55. Zupanc T. Metodologija izkopa in antropološko primerljiva analiza skeletnih ostankov žrtev povojnega poboja v Lescah. In: Dežman J, ed. Poročilo Komisije vlade Republike Slovenije za reševanje vprašanj prikritih grobišč: 2005–2008. Ljubljana: Družina; 2008. p. 175–89.
56. DiMaio VJ, DiMaio D. Forensic pathology (2nd ed). Boca Raton: CRC Press: Taylor & Francis Group; 2001.

57. Campobasso CP, Falamingo R, Grattagliano I, et al. The mummified corpse in a domestic setting. *Am J Forensic Med Pathol.* 2009; 30 (3): 307–10.
58. Aturaliya S, Lukasewycz A. Experimental forensic and bioanthropological aspects of soft tissue taphonomy: 1. Factors influencing postmortem tissue desiccation rate. 1999; 44 (5): 893–6.
59. Pinheiro, J. Decay process of cadaver. In: Schmitt A, Cunha E, Pinheiro J, eds. *Forensic anthropology and medicine. Complementary sciences from recovery to cause of death.* Totowa: Humana Press Inc; 2006. p. 85–114.
60. Quigley C. *Modern Mummies: The preservation of the human body in the twentieth century.* Jefferson: McFarland&Co; 2006.
61. Health Drip. *Forensic Medicine. Mummification* [internet]. WordPress; c2003–2018 [citirano 2018 Jan 28]. Dosegljivo na <http://healthdrip.com/mummification/http://healthdrip.com/mummification/>
62. Bucholtz A. *Death Investigation. An introduction to forensic pathology for nonscientist.* Waltham: Anderson Publishing; c2015 [citirano 2018 Feb 5] Dosegljivo na: <http://www.worldcat.org/title/death-investigation-an-introduction-to-forensic-pathology-for-the-nonscientist/oclc/899276427/viewport>.
63. Notter SJ, Stuart BH, Rowe R, et al. The initial changes of fat deposits during the decomposition of human and pig remains. *J Forensic Sci.* 2009; 54 (1): 195–201.
64. Online Etymology Dictionary [internet]. Adipocere. Hangzhou: Hangzhou Maoning Tech LTD; Douglas Harper; c2001–2018 [citirano 2018 Feb 5]. Dostopno na: <http://www.etymonline.com/>
65. Forbes SL, Stuart BH, Dent, BB. The effect of the method of burial on adipocere formation. *Forensic Sci Int.* 2005; 154 (1): 44–52.
66. Fründ HC, Schoenen D. Quantification of adipocere degradation with and without access to oxygen and to the living soil. *Forensic Sci Int.* 2009; 188 (1–3): 18–22.
67. Schoenen D, Schoenen, H. Adipocere formation-the result of insufficient microbial degradation. *Forensic Sci Int.* 2013; 226 (1–3): 301. e1–301.e6.
68. Takatori T. The mechanism of human adipocere formation. *Leg Med (Tokyo).* 2001; 3 (4): 193–204.
69. Fiedler S, Graw M. Decomposition of buried corpses, with special reference to the formation of adipocere. *Naturwissenschaften.* 2003; 90 (7): 291–300.
70. Ueland M, Breton AH, Forbes LS. Bacterial populations associated with early-stage adipocere formation in lacustrine waters. *Int J Legal Med.* 2014; 128: 379–87.
71. Forbes SL, Wilson ME, Stuart BH. Examination of adipocere formation in a cold water environment. *Int J Legal Med.* 2011; 125 (5): 643–50.
72. Bruin RA. What are the contributing factors for the formation of adipocere in soil, and how are they relevant in a forensic context? [magistrsko delo]. Amsterdam (NL): University of Amsterdam, Amsterdam; 2010.
73. Jain B. Postmortem changes. In: Jain b, ed. *Guide to Forensic Medicine & Toxicology.* New Delhi: B. Jain Publishers Ltd; 2004. p. 44–62.
74. Gupta M, Jain GV. Importance of adipocere in determining the cause of death. *J Indian Acad Forensic Med.* 2011; 33 (3): 269–70.
75. Nushida H, Adachi J, Takeuchi A, et al. Adipocere formation via hydrogenation of linoleic acid in a victim kept under dry concealment. *Forensic Sci Int.* 2008; 175 (2–3): 160–5.
76. Fiedler S, Buegger F, Klaubert B, et al. Adipocere withstands 1,600 years of fluctuating ground water levels in soil. *J Archaeol Sci.* 2009; 36 (7): 1328–33.
77. Inoue H, Iwasa M, Maeno Y, et al. Detection of toluen in an adipocerateous body. *Forensic Sci Int.* 1996; 78: 119–24.

Valentina Ahac¹, Maja Marolt Mušič²

Poročanje mamografskega izvida

Mammography Reporting

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: mamografija, mamografska klasifikacija, mamografski izvid

Mamografija je osnovna diagnostična metoda za slikanje dojke z rentgenskimi žarki, ki se je izkazala kot najuspešnejša metoda pri odkrivanju začetnih rakavih sprememb dojke. Pri pisanju mamografskega izvida so radiologom v pomoč mamografske klasifikacije, ki opredeljujejo poimenovanje sprememb in omogočajo poenotenje izvidov. V Sloveniji trenutno uporabljamo prirejeno peto izdajo klasifikacije BI-RADS (Breast Imaging and Reporting Data System) Ameriškega združenja za radiologijo iz leta 2013. Mamografski izvid glede na klasifikacijo BI-RADS vključuje indikacijo za opravljeno preiskavo, opredelitev gostote dojke, opis pomembnih najdb (npr. tumorska formacija, kalcinacije, strukturna motnja, asimetrija), posebnih primerov in pridruženih najdb ter primerjavo s starejšimi mamografskimi izvidi. Ob koncu izvida glede na najdbe določimo kategorijo po klasifikaciji BI-RADS (0–6), ki opredeli, kakšna je verjetnost, da gre pri bolnici za maligne spremembe, in priporočila za nadaljnje ukrepanje. Z uporabo mamografske klasifikacije tako standardiziramo oz. poenotimo terminologijo, kar nam omogoča lažje spremljanje in primerjavo mamografskih izvidov ter izboljša komunikacijo z napotnim zdravnikom.

ABSTRACT

KEY WORDS: mammography, mammography classification, mammographic report

Mammography is a basic diagnostic method for breast imaging that uses X-rays. It has proven itself as the most successful method in early detection of breast cancer. When writing a mammographic report, radiologists use mammography classifications, which define terminology and allow standardization of mammographic reports. In Slovenia we are currently using the modified fifth edition of the Breast Imaging and Reporting Data System (BI-RADS) classification of the American College of Radiology, published in 2013. Every mammographic report, based on the BI-RADS classification, includes description of indication for the performed study, breast composition, any significant findings (e.g. mass, calcinations, architectural distortions, asymmetry), special cases, associated features and comparison to previous studies. The mammography report conclusion should include a final assessment of findings using BI-RADS assessment category (0–6), which predicts the likelihood of cancer and recommends appropriate management. By using classifications in mammography we standardize terminology in mammographic reports, which results in easier follow-up and comparison of mammographic reports and improves communication with the referring physician.

¹ Valentina Ahac, dr. med., Oddelek za radiologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

² Doc. dr. Maja Marolt Mušič, dr. med., Oddelek za radiologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana; Katedra za slikovno diagnostiko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; mmusic@onko-i.si

UVOD

Mamografija je osnovna diagnostična metoda za slikanje dojke z rentgenskimi žarki, ki se je izkazala kot najuspešnejša metoda pri odkrivanju začetnih rakavih sprememb dojke. Kot presejalno metodo jo uporabljamo pri zdravih ženskah vsaki dve leti v starostni skupini 50–69 let, pri zmerno ogroženih bolnicah enkrat letno nad 40. letom oz. po 50. letu dvakrat letno v okviru presejalnega programa, pri visoko ogroženih enkrat letno nad 30. letom ter pri vseh simptomatskih ženskah nad 35. letom (1). Za doseganje čim boljše občutljivosti preiskave dojki pri mamografiji stisnemo med dve plošči (ob tem se tkivo razpre, kar poveča preglednost), nato pa vsako dojko slikamo v dveh projekcijah – kraniokavdalni (angl. *craniocaudal*, CC) in mediolateralni polstranski pod kotom 45° (angl. *mediolateral oblique*, MLO) (1–3). Vse mamografije morajo biti opravljene v skladu z evropskimi smernicami in ustrezati standardom kakovosti. Pomembno je, da je mamografska slika simetrična in je vsaka dojka prikazana v celoti. V Sloveniji za nadzor kakovosti uporabljamo svoj sistem ocenjevanja, ki je kombinacija angleških meril PGMI (angl. *perfect, good, moderate, inadequate*) in nemških meril Dokustufen (stopnje 1, 2 in 3). Pri pisanju izvidov so radiologom v pomoč mamografske klasifikacije, ki opredeljujejo poimenovanje sprememb in omogočajo poenotenje izvidov. Poznamo številne mamografske klasifikacije, od katerih sta najbolj znani klasifikacija BI-RADS (Breast Imaging and Reporting Data System) Ameriškega združenja za radiologijo (American College of Radiology, ACR) in klasifikacija Eusoma (4). Tako kot v večini ostalih držav s presejalnimi programi za raka dojke tudi v Sloveniji uporabljamo modificirano klasifikacijo BI-RADS, ki je bila prvič izdana že leta 1993. Trenutno je v uporabi dopolnjena peta izdaja omenjene klasifikacije, ki opredeljuje enotno terminologijo za poimenovanje sprememb. Uvaja sedem kategorij (0–6), s ka-

terimi ocenimo, kako velika je verjetnost, da gre pri bolnici za maligno bolezen, in predlaga nadaljnje ukrepe (6–10).

STRUKTURA MAMOGRFSKEGA IZVIDA

Indikacija za preiskavo

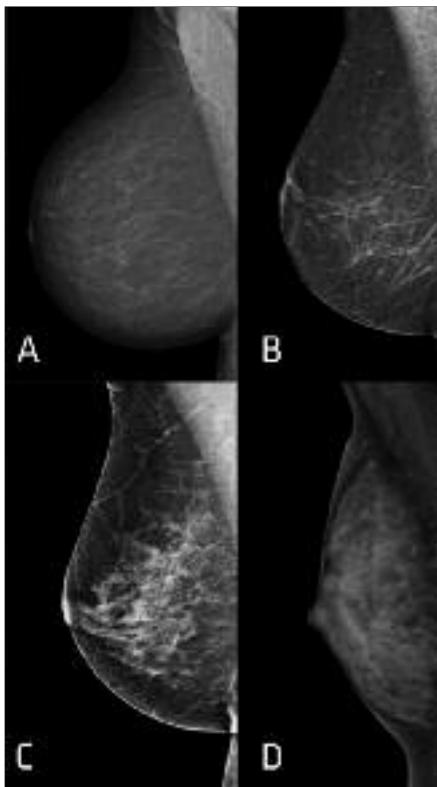
Mamografski izvid naj bi vseboval kratek opis indikacije za mamografsko preiskavo, ki je lahko presejalna, diagnostična (npr. ponovno slikanje lezije, odkrite v sklopu presejanja, slikanje za oceno klinično tipne lezije) ali pa jo opravimo, da bi sledili (angl. *follow-up*) že odkritim benignim lezijam ali malignomom (6, 11).

Gostota

Gostoto dojke določimo glede na razmerje med maščobnim in žleznim (oz. fibroglandularnim) tkivom. V prejšnji (četrty) izdaji klasifikacije BI-RADS je bila ocena gostote osnovana na odstotku žleznega glede na maščobno tkivo, v najnovejši (peti) izdaji pa temelji na subjektivni oceni radiologa. Če dojki nista enake gostote, gostoto ocenimo glede na dojko z večjo gostoto. Ločimo štiri kategorije za oceno gostote dojke (slika 1) (6–8):

- tip A: dojki sta maščobne strukture – prevladuje maščobno tkivo (najvišja občutljivost preiskave),
- tip B: dojki sta pretežno maščobne strukture – prisotna so razpršena področja žleznega tkiva,
- tip C: dojki sta zmerno goste žlezne strukture – heterogena gostota žleznega tkiva, ki lahko zakrije manjše spremembe, in
- tip D: dojki sta goste žlezne strukture (močno znižana občutljivost preiskave).

Gostota dojke se spreminja glede na starost in menstruacijski cikel – v mladosti, med nosečnostjo in dojenjem so dojke običajno gostejše in mamografsko slabše pregledne, v pomenopavznem obdobju pa se mamografska občutljivost dojke povečuje (12).



Slika 1. Kategorije za oceno gostote dojke. Tip A: dojka je v celoti maščobne strukture (A). Tip B: dojka je pretežno maščobne strukture (B). Tip C: dojka je zmerno goste žlezne strukture (C). Tip D: dojka je goste žlezne strukture (D).

Checka in sodelavci so v retrospektivni analizi v vzorcu 7.007 žensk z opravljeno presejalno mamografijo v letu 2008 v New Yorku ugotovili, da ima gosto žlezno strukturo dojke 74 % žensk starosti 40–49 let, 57 % žensk v 50. letih, 44 % žensk v 60. letih in le 36 % žensk v 70. letih (13). Z opredelitvijo gostote dojke napotnega zdravnika opozorimo, kakšna je verjetnost, da smo v izvidu izključili patološke spremembe – npr. maligna obolenja.

Pomembne najdbe

Pri poročanju mamografskega izvida smo pozorni predvsem na spremembe, ki bi lahko predstavljale maligna obolenja; to so tu-

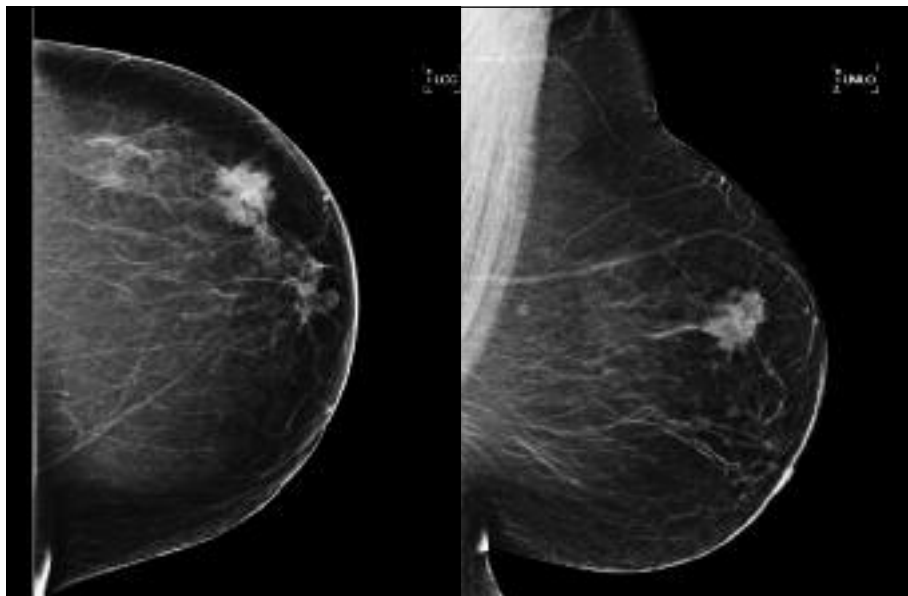
morske formacije, kalcinacije, strukturne motnje in asimetrija.

Tumorske formacije

Tumorske formacije so tridimenzionalne strukture, ki so vidne v dveh projekcijah in imajo konveksen rob (slika 2). Če spremembo vidimo le v eni projekciji, jo poimenujemo asimetrija (11, 12). Glede na trenutno izdajo klasifikacije BI-RADS opišemo (2, 6–9, 11):

- velikost (izmerjeno v najdaljši osi ter v osi, pravokotni na prvo, spikulacij pri tumorskih formacijah s spikuliranim robom ne vključimo),
- obliko (ovalna, okrogla, nepravilna; v najnovejši izdaji ni več opisane lobulirane oblike, ki jo sedaj navedemo kot ovalno oz. v primeru več kot dveh lobulacij kot nepravilno),
- rob (ostro omejen, prekrit (z drugimi spremembami ali normalnim žleznim tkivom), mikrolobuliran (majhne undulacije), nejasen oz. slabo definiran, spikuliran oz. zvezdast) in
- gostoto (določimo v primerjavi z žleznim tkivom: večje gostote, enake gostote, nižje gostote, vsebuje maščevje).

Na maligno dogajanje posumimo predvsem pri spremembah, ki so velike (večje spremembe imajo večjo stopnjo malignosti), nepravilne oblike (maligne v 81 %), z zabrisanim robom (maligne v 33 %), mikrolobulirane, neostro omejene (maligne v 44 %) ali spikulirane (maligne v 96 %). Ostro omejene spremembe so maligne v manj kot 2 % (14, 15). Bolj sumljive so tudi spremembe, ki so večje gostote v primerjavi z okolnim tkivom, medtem ko so spremembe nižje gostote zelo redko maligne (11). V retrospektivni raziskavi Woodsa in sodelavcev, v kateri so analizirali 348 z biopsijo opredeljenih tumorskih mas, je bilo 70,2 % tumorskih formacij večje gostote malignih, med tumorskimi formacijami enake in nižje gostote pa je bilo malignih le 22,3 % (15).



Slika 2. Leva dojka, slikana v kraniokavdalni (angl. *left craniocaudal*, LCC) in v mediolateralni polstranski (angl. *left mediolateral oblique*, LMO) projekciji. Leva dojka je maščobne strukture (tip A). V zgornjem zunanjem kvadrantu leve dojke je vidna nepravilna spikulirana tumorska formacija velikosti 35 mm × 29 mm, ki ima v primerjavi z okolnim tkivom večjo gostoto. Histološko je bil potrjen invazivni duktalni karcinom.

Kalcinacije

Kalcinacije, vidne na mamografskih slikah, so posredni znak patoloških procesov, kot so vnetje, okužba, benigne ali maligne lezije. Kalcinacije so največkrat benigne, lahko pa predstavljajo tudi prvi znak malignega dogajanja. Kar 90 % netipnih duktalnih karcinomov *in situ* je diagnosticiranih samo na podlagi prisotnosti mikrokalcinacij (16, 17). V izvidu opišemo morfologijo, razporeditev, velikost (izmerimo najdaljšo linearno dimenzijo), pridružene najdbe in lokacijo kalcinacij (6, 11).

Po aktualni klasifikaciji BI-RADS kalcinacije glede na morfologijo razvrščamo v dve skupini (11):

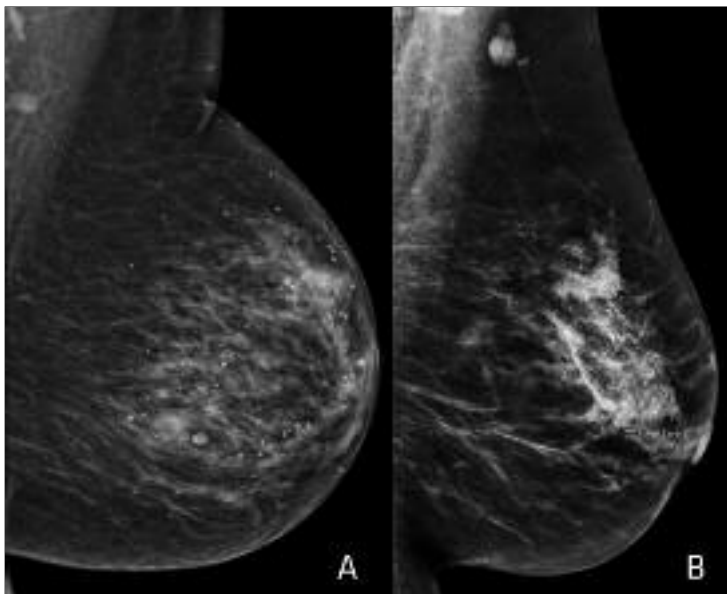
- tipično benigne kalcinacije (kožne, žilne, grobe (tip koruznega zrna), velike paličaste, okrogle, robne, distrofične, kalcijevo mleko, kalcinacije šivov) in
- kalcinacije sumljive morfologije – povečano tveganje za malignost (amorfnе oz.

nejasne, grobe heterogene, drobne (fine) pleomorfne, drobne linearne ali drobne linearno razvejane).

Verjetnost, da gre za maligne spremembe, je pri grobih heterogenih kalcinacijah 13 %, pri amorfnih 27 %, pri drobnih pleomornih 50 % in pri drobnih linearnih ali linearno razvejanih 78 % (7).

Poleg morfologije je pomembna tudi razporeditev kalcinacij, ki je (od najmanj do najbolj sumljive za malignom) lahko (slika 3) (11):

- difuzno raztresena (naključna razporeditev v celotni dojki),
- regionalna (zajamejo > 2 cm tkiva dojke),
- v gručī oz. skupini (vsaj pet kalcinacij znotraj 1 cm oz. več kalcinacij znotraj največ 2 cm),
- linearna (v ravni črti, odlaganje v izvodilu) ali
- segmentna (odlaganje v izvodilih in njihovih vejah).



Slika 3. V levi dojki so vidne difuzno razpršene grobe kalcinacije benignega videza (A). V projekciji zgornjih kvadrantov leve dojke je vidna gruča pleomorfnih kalcinacij premera 78 mm. Histološko je bila potrjena kombinacija *in situ* in invazivnega duktalnega karcinoma (B).

Kalcinacije, pri katerih posumimo, da so maligne, so predvsem drobne in linearno razvejane ali pa tiste, ki so v skupinah oz. gručah ali pleomorfne oblike. Večje, grobe, okrogle kalcinacije z gladkim robom in difuzno razpršeno razporeditvijo običajno niso sumljive (17).

Strukturne motnje

O strukturni motnji govorimo, ko je normalna arhitektura dojke porušena brez mamografsko vidne mase (npr. prisotnost tankih ravnih črt ali spikulacij, ki segajo iz točke, fokalna retrakcija, izkrivljeni robovi parenhima itd). Predstavlja lahko karcinom, brazgotinsko tkivo ali pooperativne spremembe (slika 4). Strukturna motnja je lahko prisotna tudi kot pridružena najdba ob tumorski formaciji, kar zviša verjetnost, da gre za maligne spremembe (11). Pozitivna napovedna vrednost strukturne motnje za malignom je 74,5 %. Manj verjetno gre za maligne spremembe, če strukturno motnjo odkrijemo na presejalni mamografiji v pri-

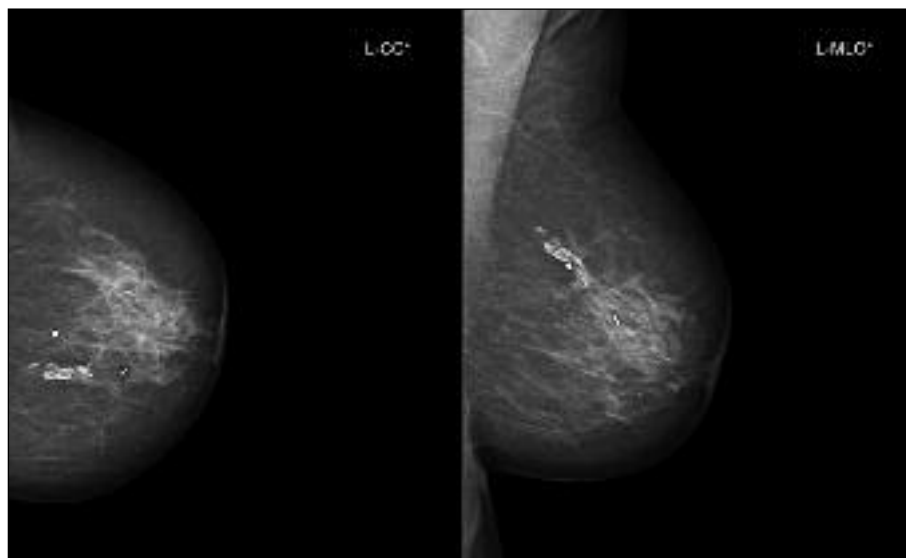
merjavi s strukturno motnjo, odkrito v sklopu diagnostične mamografije (18).

Asimetrija

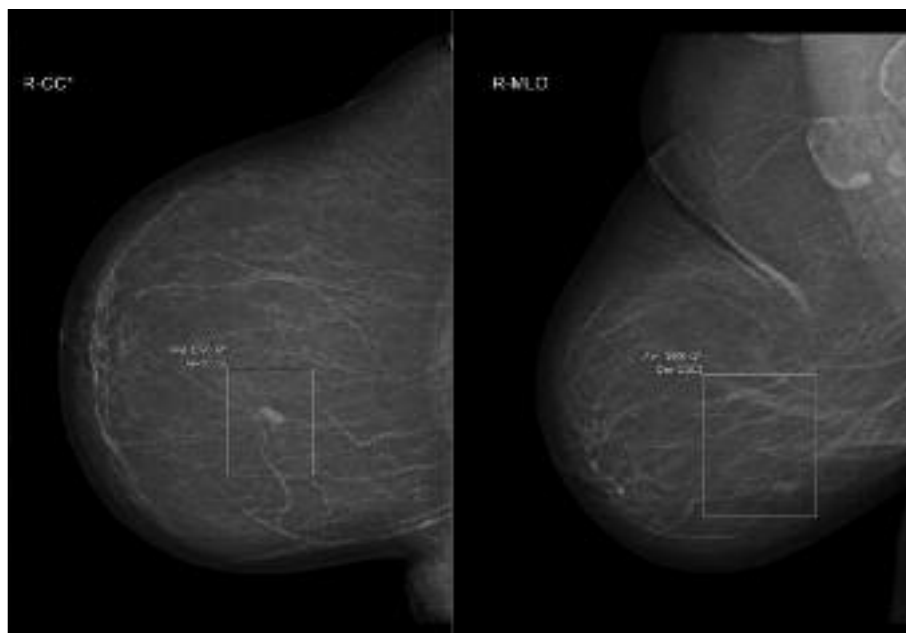
Asimetrija je opredeljena kot enostranska zgostitev žleznega tkiva brez značilnosti mase in je lahko (slika 5) (5, 11):

- asimetrično področje, vidno le na eni projekciji,
- fokalna (vidna na dveh projekcijah in zajema manj kot četrtno dojke; treba jo je ločiti od mase, v primerjavi s katero fokalna asimetrija nima konveksnih robov, je slabše vidna in običajno vsebuje tudi maščobno tkivo),
- globalna (enako kot fokalna, vendar zajema vsaj četrtno dojke) ali
- razvijajoča (novonastala, večja oz. bolje vidna v primerjavi s predhodno preiskavo).

V večini primerov je asimetrija nespecifična in običajna najdba pri zdravih ženskah, včasih pa lahko predstavlja tudi sekundarni znak malignega dogajanja (celokupno



Slika 4. Leva dojka, slikana v kraniokavdalni (angl. *left craniocaudal*, L-CC) in v mediolateralni polstranski (angl. *left mediolateral oblique*, L-MLO) projekciji. Leva dojka je pretežno maščobne strukture (tip B). V zgornjem notranjem kvadrantu leve dojke so vidne kirurške sponke (pooperativne spremembe) in strukturna motnja z grobimi kalcinacijami v maščobni nekrozi.



Slika 5. Desna dojka, slikana v kraniokavdalni (angl. *right craniocaudal*, R-CC) in v mediolateralni polstranski (angl. *right mediolateral oblique*, R-MLO) projekciji. Desna dojka je maščobne strukture (tip A). V spodnjem notranjem kvadrantu desne dojke je vidna asimetrična zgostitev velikosti 5 mm.

tveganje vseh vrst asimetrij za malignom znaša 1,8 %) (2, 19). Najbolj sumljiva vrsta asimetrije je razvijajoča asimetrija, ki je sicer opisana redko (< 1 %), vendar verjetnost za malignom dosega 12,8 % na presejalni mamografiji in 26,7 % na diagnostični mamografiji (19, 20).

Posebni primeri

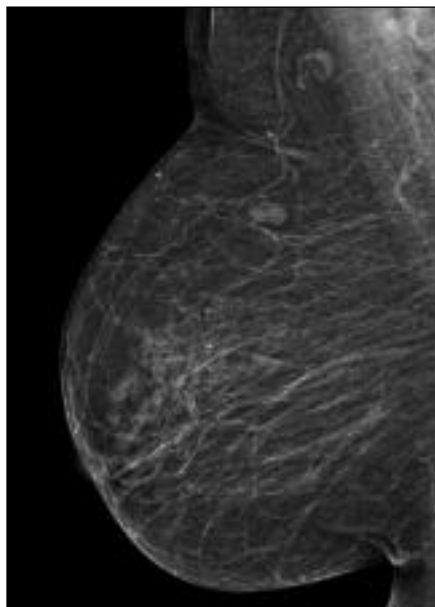
Posebni primeri so mamografske najdbe, ki so dovolj značilne, da jih ni treba podrobneje opisovati (slika 6) (6, 11):

- bezgavka v dojki,
- kožna lezija (npr. kožno znamenje, bradavica) in
- solitarni razširjen vod (redko prisoten).

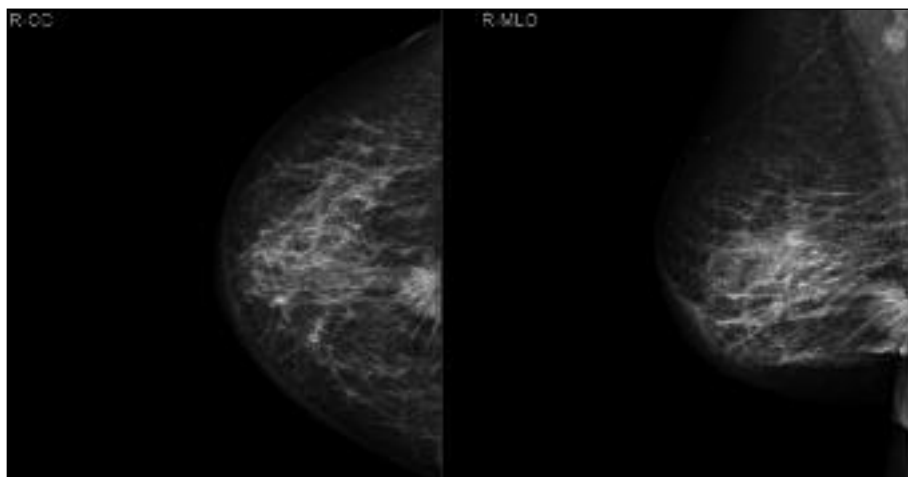
Pridružene najdbe

Pridružene najdbe na mamografiji so najdbe, ki jih vidimo v povezavi s sumljivimi najdbami, kot so tumorske formacije, asimetrije in kalcinacije. Sem spadajo (slika 7, slika 8) (5, 11):

- uvlečena koža,
- uvlečena bradavica,
- zadebelitev kože (> 2 mm),



Slika 6. Desna dojka, slikana v mediolateralni polstranski (angl. *mediolateral oblique*, MLO) projekciji. Desna dojka je pretežno maščobne strukture (tip B). V projekciji zgornjih kvadrantov desne dojke sta vidni dve dobro omejeni, okrogli, lobulirani formaciji z vidnim maščobnim hilusom – bezgavki v dojki.



Slika 7. Desna dojka, slikana v kraniokavdalni (angl. *right craniocaudal*, R-CC) in v mediolateralni polstranski (angl. *right mediolateral oblique*, R-MLO) projekciji. Prikazana dojka je pretežno maščobne strukture (tip B). Na meji spodnjih kvadrantov desne dojke je v zadnji tretjini vidna nepravilna spikulirana tumorska formacija velikosti 30 mm, ki ima večjo gostoto kot okolno tkivo. Koža desne dojke je v spodnjih kvadrantih zadebeljena. Parenhim desne dojke v zunanjem spodnjem delu desne dojke je zadebeljen. Histološko je bil potrjen invazivni duktalni karcinom.

- zadebelitev trabekul (zadebeljene fibrozne septe),
- aksilarna adenopatija (bezgavke > 2 cm, ki ne vsebujejo maščobnega tkiva),
- strukturne motnje in
- kalcinacije (kot pridružena najdba).

Lokacija najdb

Pri vseh pomembnih najdbah, ki jih opišemo v mamografskem izvidu, moramo opredeliti tudi njihovo lokacijo. Lokacijo lahko določimo glede na (slika 9) (11):

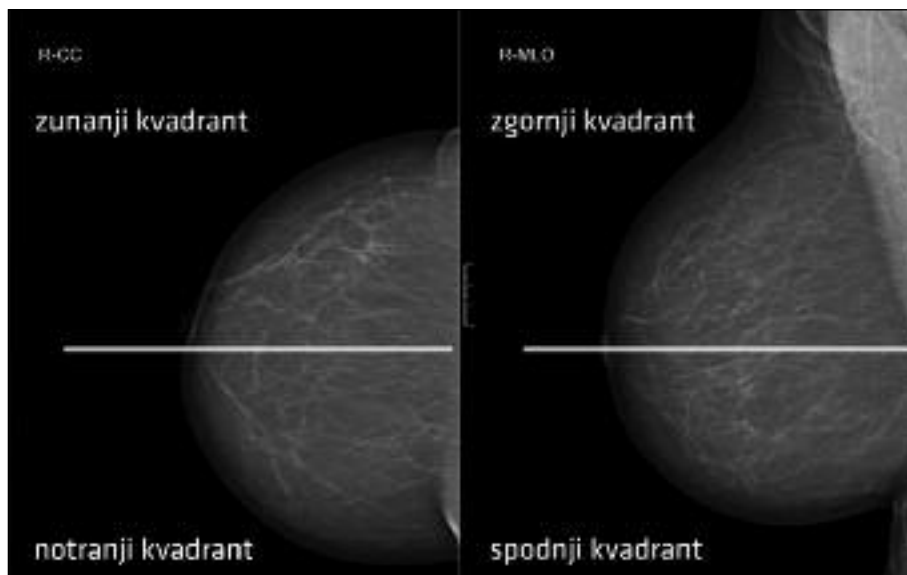
- lateralnost (leva oz. desna dojka),
- kvadrant (zgornji/spodnji, zunanji/notranji),
- smer urinega kazalca,
- globino (sprednja, srednja, zadnja tretjina) in
- oddaljenost od bradavice.

Primerjava s predhodnimi mamografskimi posnetki

Primerjava s predhodnimi mamografskimi posnetki je pomembna v vseh primerih, ko na mamografiji najdemo spremembe, za ka-



Slika 8. Leva dojka, slikana v mediolateralni polstranski (angl. *left mediolateral oblique*, L-MLO) projekciji. V levi aksili je viden skupek okroglih, povečanih bezgavk, ki meri približno 5 cm (aksilarna adenopatija) in je mamografsko sumljiv, saj kaže na patološke bezgavke. Histološko je bil potrjen zasevek slabo diferenciranega karcinoma, katerega izvora ni bilo mogoče natančno določiti.



Slika 9. Kvadranti desne dojke na kraniokavdalni (angl. *right craniocaudal*, R-CC) in na mediolateralni polstranski (angl. *right mediolateral oblique*, R-MLO) projekciji.

tere težko opredelimo, ali so benigne ali maligne (5, 6). Odsotnost dinamike je pomemben kriterij, ki govori v prid benignosti. V takšnih primerih v izvid zapišemo, da smo opravili primerjavo s predhodno mamografsko preiskavo (pripišemo tudi njen datum). Zaželeno je tudi, da se v izvid zapiše, če primerjava ni bila opravljena (6).

Končna ocena

Na koncu mamografskega izvida glede na mamografske najdbe določimo kategorijo po klasifikaciji BI-RADS (0–6), s katero ocenimo, kakšna je verjetnost, da gre pri bolnici za maligne spremembe, in predlagamo ustrezne ukrepe za nadaljnjo diagnostiko oz.

obravnavo (tabela 1) (6). V Sloveniji uporabljamo prirejeno klasifikacijo BI-RADS brez kategorije 4c.

ZAKLJUČEK

Poročanje mamografskih izvidov glede na klasifikacijo BI-RADS je pomagalo pri standardizaciji oz. poenotenju terminologije, omogočilo lažje spremljanje in primerjavo mamografskih izvidov ter izboljšalo tudi komunikacijo z napotnim zdravnikom. Lažja je tudi možnost statistične obdelave mamografskih izvidov, kar omogoča večji nadzor nad njihovo kakovostjo in tako tudi bolj kakovostno obravnavo bolnic (21).

Tabela 1. Kategorije po klasifikaciji BI-RADS (*Breast Imaging and Reporting Data System*) (6).

Kategorija	Ukrepanje	Verjetnost za malignom
0 nepreglednost	dodatna diagnostična obravnava ^a	/
1 normalen izvid	rutinsko mamografsko sledenje	0 %
2 benigne spremembe	rutinsko mamografsko sledenje	0 %
3 verjetno benigne spremembe	sledenje v krajšem časovnem intervalu (npr. po šestih mesecih)	≤ 2 %
4a zmerno verjetne maligne spremembe	odvzem tkivnega vzorca ^b	> 10 do ≤ 50 %
4b bolj verjetno maligne spremembe		> 50 do < 95 %
5 zelo verjetne maligne spremembe	odvzem tkivnega vzorca ^b	≥ 95 %
6 z biopsijo potrjene maligne spremembe	kirurška ekscizija, če je možna	/

^a npr. pregled starejših slik, dodatne mamografske projekcije, ciljana povečava, ciljana kompresija, UZ dojk

^b npr. tankoigelnna biopsija, debeloigelnna biopsija, vakuumska debeloigelnna biopsija

LITERATURA

1. Žgajnar J. Smernice diagnostike in zdravljenja raka dojke. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana; 2018.
2. Dora – državni presejalni program za raka dojke. Presejanje za raka dojke. DORA; c2018 [citirano 2018 Jun 18]. Dosegljivo na: https://dora.onko-i.si/presejanje_za_raka_dojk/
3. Thomassin-Naggara I, Tardivon A, Chopier J. Standardized diagnosis and reporting of breast cancer. *Diagn Interv Imaging*. 2014; 95 (7–8): 759–66.
4. Kutnar V. Nadzor kakovosti dela radioloških inženirjev pri presejanju v programu DORA. Bilten: glasilo Društva radioloških inženirjev Slovenije. 2017; 34 (1): 4–10.
5. Renner M, Vargazon T. Mamografska klasifikacija. *Radiol Oncol*. 2004; 38 (Suppl 1): S59–68.
6. American College of Radiology. ACR BI-RADS atlas: breast imaging reporting and data system. 5th ed. Virginia: Reston; 2013.
7. Rao AA, Feneis J, Lalonde C, et al. A pictorial review of changes in the BI-RADS fifth edition. *Radiographics*. 2016; 36 (3): 623–39.
8. Spak DA, Plaxco JS, Santiago L, et al. BI-RADS® fifth edition: a summary of changes. *Diagn Interv Imaging*. 2017; 98 (3): 179–90.
9. Balleyguier C, Ayadi S, Van Nguyen K, et al. BI-RADS classification in mammography. *Eur J Radiol*. 2007; 61 (2): 192–4.
10. Obenauer S, Hermann KP, Grabbe E. Application and literature review of the BI-RADS classification. *Eur Radiol*. 2005; 15 (5): 1027–36.
11. Zonderland H, Smithuis R. BI-RADS for mammography and ultrasound 2013. *Radiology assistant*; 2013 [citirano 2018 Jun 18]. Dosegljivo na: <http://www.radiologyassistant.nl/en/p53b4082c92130/bi-rads-for-mammography-and-ultrasound-2013.html>
12. Mušič Marolt M, Hertl K, Kadivec M, et al. Rentgenska in ultrazvočna anatomija dojke. *Radiol Oncol*. 2004; 38 (Suppl 1): S51–7.
13. Checka CM, Chun JE, Schnabel FR, et al. The relationship of mammographic density and age: implications for breast cancer screening. *AJR Am J Roentgenol*. 2012; 198 (3): W292–5.
14. Berment H, Becette V, Mohallem M, et al. Masses in mammography: what are the underlying anatomopathological lesions? *Diagn Interv Imaging*. 2014; 95 (2): 124–33.
15. Woods RW, Sisney GS, Salkowski LR, et al. The mammographic density of a mass is significant predictor of breast cancer. *Radiology*. 2011; 258 (2): 417–25.
16. Henrot P, Leroux A, Barlier C, et al. Breast microcalcifications: the lesions in anatomical pathology. *Diagn Interv Imaging*. 2014; 95 (2): 141–52.
17. Muttarak M, Kongmebhool P, Sukhamwang N. Breast calcifications: which are malignant? *Singapore Med J*. 2009; 50 (9): 907–13.
18. Bahl M, Baker JA, Kinsey EN, et al. Architectural distortion on mammography: correlation with pathologic outcomes and predictors of malignancy. *AJR Am J Roentgenol*. 2015; 205 (6): 1339–45.
19. Youk JH, Kim EK, Ko KH, et al. Asymmetric mammographic findings based on the fourth edition of BI-RADS: types, evaluation, and management. *Radiographics*. 2009; 29 (1): e33.
20. Price ER, Joe BN, Sickles EA. The developing asymmetry: revisiting a perceptual and diagnostic challenge. *Radiology*. 2015; 274 (3): 642–51.
21. Burnside ES, Sickles EA, Bassett LW, et al. The ACR BI-RADS experience: learning from history. *J Am Coll Radiol*. 2009; 6 (12): 851–60.

Mark Jovanović¹, Marta Cvijić²

Sakubitril/Valsartan: novo zdravilo za zdravljenje srčnega popuščanja

Sacubitril/Valsartan: A Novel Drug for the Treatment of Heart Failure

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: srčno popuščanje, standardno farmakološko zdravljenje, sakubitril/valsartan

Kronično srčno popuščanje predstavlja v današnjem, zlasti zahodnem svetu, perečo javno-zdravstveno težavo tako zaradi staranja prebivalstva, kot tudi zaradi vse večjega bremena pridruženih kroničnih bolezni. Standardno farmakološko zdravljenje srčnega popuščanja z znižanim iztisnim deležem je v zadnjih desetletjih pomembno izboljšalo prognozo teh bolnikov, vendar kljub temu ostaja pomemben delež tistih, ki ne prenašajo neželenih učinkov zdravil, se na tovrstno zdravljenje ne odzovejo ali pa še vedno niso deležni ustrezne titracije zdravil. Nedavno so pozitivni rezultati večje klinične raziskave, ki je primerjala učinkovitost novega zdravila sakubitril/valsartan z enalaprilom, pomembno spremenili obravnavo bolnikov s srčnim popuščanjem in znižanim iztisnim deležem. Čeprav je raba novega zdravila v zadnjih evropskih priporočilih za zdravljenje srčnega popuščanja jasno opredeljena z razredom priporočil stopnje I, pa vendarle ostajajo odprta številna vprašanja glede resnične pogostosti neželenih stranskih učinkov zdravila sakubitril/valsartan in njegovega dolgoročnega varnostnega profila, zato se pri uvajanju svetuje previdnost.

ABSTRACT

KEY WORDS: heart failure, standard pharmacologic treatment, sacubitril/valsartan

Nowadays chronic heart failure presents a topical health issue, particularly in the western world, due to population ageing and increasing comorbidities. In the last decades, the standard pharmacologic treatment of heart failure with reduced ejection fraction has remarkably improved the prognosis of patients who suffer from the aforementioned condition. Nevertheless, we cannot ignore the fact that there is a significant subgroup of those patients who either do not tolerate standard medications due to side effects or simply do not respond successfully to standard therapy due to an inappropriate titration scheme. Currently, the positive results of a single large clinical trial, in which the efficacy of a new drug sacubitril/valsartan was compared with the standard drug enalapril, have dramatically changed the management of patients with heart failure and reduced ejection fraction. According to the last European guidelines for diagnosis and treatment of heart

¹ Mark Jovanović, dr. med., Klinični oddelek za kardiologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; jovanovicmark9@gmail.com

² Dr. Marta Cvijić, dr. med., Klinični oddelek za kardiologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

failure, the use of sacubitril/valsartan is approved with recommendation class I. Despite the enthusiasm over the results of the clinical trial, its detailed analysis raises doubts over the correct interpretation of results and leaves unanswered questions about the novel drug, such as the real frequency of side effects and the long-term safety profile, the reason why caution should take first place before the new drug is administered.

UVOD

O srčnem popuščanju govorimo, kadar srce pri normalnem polnilnem tlaku ne zmore zagotoviti zadostnega minutnega volumna krvi, da bi zadostilo vsem presnovnim potrebam organizma (1). Klinično se to izrazi z bolj ali manj značilnimi simptomi (dispneja ob naporu, zmanjšana telesna zmogljivost, ortopneja) in znaki srčnega popuščanja (tretji srčni ton, zastojna jetra, oteklina, čezmerno polne vratne vene, poki nad pljuči, periferna cianoza). Glede na vodilni vzrok okvare ločimo dve osnovni entiteti srčnega popuščanja; srčno popuščanje z znižanim iztisnim deležem (angl. *heart failure with reduced ejection fraction*, HFrEF), pri katerem je prizadeta predvsem črpalna funkcija srca, in srčno popuščanje z ohranjenim iztisnim deležem (angl. *heart failure with preserved ejection fraction*, HFpEF), pri katerem je prizadeta predvsem polnitev srca v fazi diastole. Poleg osnovne delitve zadnje smernice Evropskega kardiološkega združenja za diagnostiko in zdravljenje srčnega popuščanja HFpEF uvrščajo tudi bolnike s srčnim popuščanjem in z blago znižanim iztisnim deležem (angl. *heart failure with mid-range ejection fraction*, HFmrEF), ki po vrednosti iztisnega deleža levega prekata pravzaprav predstavlja vmesno območje med HFrEF in HFpEF ter zajema enako obravnavo kot pri bolnikih s HFpEF, vendar se od le-teh prognostično pomembno razlikuje. V prihodnje lahko pričakujemo večje število raziskav, ki bodo natančneje opredelile terapevtsko obravnavo bolnikov s HFmrEF. Prevalenca srčnega popuščanja se trenutno giblje med 2–5 % splošne populacije, pri

starejših od 70 let pa se ta delež podvoji (2). Po nekaterih napovedih naj bi delež starostnikov s srčnim popuščanjem do leta 2040 presegel 20 %, saj pogostost bolezni iz leta v leto raste (3). V zadnjih desetletjih so zaviralci angiotenzinske konvertaze (angl. *angiotensin-converting-enzyme inhibitors*, ACEi) oz. zaviralci angiotenzina II (angl. *angiotensin receptor blockers*, ARBs), blokatorji receptorjev β (angl. *β -blockers*, BBs) in zaviralci mineralokortikoidnih receptorjev (angl. *mineralocorticoid receptor antagonists*, MRAs) odigrali ključno vlogo pri farmakološkem zdravljenju bolnikov s HFrEF in še dandanes predstavljajo zlati standard obravnave. Z nedavnim razvojem sintetične kombinacije dveh učinkovin, sakubitrida (zaviralca neprilizina) in valsartana (zdravila iz skupine ARBs), pa so se odprle nove možnosti zdravljenja srčnega popuščanja, saj ta kombinacija zdravil deluje na popolnoma novo prijemališče nevrohormonskega sistema.

PATOFIZIOLOGIJA NEVROHORMONSKIH SPREMENB PRI SRČNEM POPUŠČANJU IN DELOVANJE DOSEDANJIH STANDARDNIH ZDRAVIL

Nevrohormonske spremembe pri srčnem popuščanju

Organizem se na znižan minutni volumen srca odzove z aktivacijo kompenzacijskih mehanizmov, ki poskušajo vzdrževati ustrezen krvni tlak in prekrvavitev organov. V akutni fazi je ta odziv ugoden, dolgoročno pa vodi v poslabšanje funkcije srca in na-

predovanje srčnega popuščanja. Nevrohoromonski kompenzacijski mehanizem predstavlja centralni avtonomni simpatični (adrenergični) živčni sistem in renin-angiotenzin-aldosteronski sistem (angl. *renin-angiotensin-aldosterone system*, RAAS) (slika 1).

Padec krvnega tlaka preko baroreceptor-skega refleksa sproži aktivacijo simpatičnega živčnega sistema in sproščanje anti-diuretičnega hormona (angl. *antidiuretic hormone*, ADH) iz nevrohipofize (slika 1). ADH primarno vpliva na povečanje reabsorpcije proste vode v zbiralcu nefrona, hkrati pa deluje tudi kot močan vazokonstriktor, kar skupno vodi v povečanje volumna krvi in krvnega tlaka. Akutni kompenzacijski mehanizem simpatičnega živčnega sistema sproži povečano sproščanje endogenih kateholaminov (sproščanje noradrenalina iz živčnih sinaps in adrenalina iz nadledvične žleze), ki nato učinkujejo na srce in periferno žilje. Učinek akutne aktivacije simpatičnega živčnega sistema se na ravni srca izrazi kot zvišanje srčne frekvence (pozitiven kronotropni učinek), povečanje krčljivosti srčne mišice (pozitiven inotropni učinek) in učinkovitejša relaksacija srčne mišice (pozitiven luzitropni učinek). Na ravni perifernega obtoka pride do venokonstrikcije, s čimer se poveča priliv krvi v desni preddvor, hkrati pa periferna vazokonstrikcija zmanjša pretok krvi skozi življenjsko manj pomembne organe (mišičje, koža, prebavila). Aktivacija simpatičnega živčnega sistema tako akutno poskuša vzdrževati zadosten krvni tlak in prekrvavitev najpomembnejših organov (možgani, srce). Čezmerna in dolgotrajna aktivacija simpatičnega živčnega sistema pa energijsko izčrpa srčno mišico, ki že tako popušča. To vodi v napredovanje srčnega popuščanja, kar dodatno aktivira simpatični živčni sistem in pozitivna povratna zanka je tako sklenjena (4).

Hipoperfuzija ledvice povzroči aktivacijo RAAS. Iz ledvic se v kri začne izločati renin in njegova predoblika, prorenin. Re-

nin nato povzroči, da se v krvi angiotenzinogen pretvori v angiotenzin I, ki ga nato encim angiotenzinska konvertaza (angl. *angiotensin-converting enzyme*, ACE), ki pretežno nastaja v pljučih, pretvori v angiotenzin II. Angiotenzin II preko delovanja na receptor tipa I (angl. *angiotensin II receptor type I*, AT1) povzroči vazokonstrikcijo, spodbuja reabsorpcijo natrijevih ionov iz proksimalnih tubulov v ledvici in povzroči izločanje aldosterona v nadledvični žlezi, ki še dodatno vpliva na zadrževanje vode in soli v telesu. Akutni učinki RAAS na srčno-žilni sistem so tako sinergistični učinkom simpatičnega živčnega sistema. Dolgoročno pa ob prekomerni aktivaciji RAAS zaradi volumnske in tlačne obremenitve srčne mišice ter ob vplivu nevrohormonov, zlasti aldosterona, in vnetnih citokinov pride do preoblikovanja srčne mišice. V srčni mišici se začne razraščati vezivo, prekat se postopno preoblikuje in razširi. Posledično srčna mišica še dodatno oslabi, kar vodi v še večjo aktivacijo RAAS in pozitivno povratno zanko (4, 5).

Protiutež adrenergičnim vplivom in učinkom RAAS predstavlja sistem natriuretičnih peptidov (angl. *natriuretic peptide system*, NPs), kamor uvrščamo številne vazodilatatorne molekule: atrijske (angl. *atrial natriuretic peptide*, ANP) in možganske natriuretične peptide (angl. *brain natriuretic peptide*, BNP), prostaglandine in dušikov oksid. Najpomembnejšo vlogo pri srčnem popuščanju imata ANP in BNP, ki se sproščata iz celic srčne mišice kot neposredni odziv na prekomerno raztezanje in povečan stres na steno srca. Porast natriuretičnih peptidov v plazmi povzroči periferno vazodilatacijo, poveča hitrost glomerulne filtracije in pretok krvi skozi ledvice ter tako pospeši natriurezo in diurezo. Ob prekomerni aktivaciji RAAS pa to omogoča razbremenitev volumnsko in tlačno obremenjene srčne mišice. V odvisnosti od genetske nagnjenosti, spola, starosti ter vpliva okoljskih dejavnikov je lahko na račun ravnovesja med vplivi RAAS in NPs srčna funkcija

ohranjena znotraj normalnega razpona tudi več let, klinična slika srčnega popuščanja pa je pri bolniku zabrisana. S časom adrenergični vplivi in učinki RAAS prevladajo nad učinki natriuretičnih peptidov in pojavijo se klinični znaki in simptomi dekompenziranega srčnega popuščanja. K temu prispeva pri določenih posameznikih tudi povišana aktivnost encima neprilizin, ki se nahaja predvsem na ščetkastem obrobku proksimalnega ledvičnega tubula in na glomerulnem epiteliju. Neprilizin je nevtralna endopeptidaza, ki razgrajuje številne v povezavi z žiljem aktivne peptide (natriuretični peptid, angiotenzin, endotelin 1, adrenomedulin, itd.). Povečana aktivnost neprilizina tako neposredno zmanjšuje ugoden učinek NPs pri bolnikih s srčnim popuščanjem (5).

Dosedanja zdravila za srčno popuščanje s prijemališčem na nevrohormonskem sistemu

Cilj farmakološkega zdravljenja srčnega popuščanja je v čim večji meri izboljšati kakovost življenja in preživetje bolnikov (6). Glede na trenutno veljavna priporočila Evropskega kardiološkega združenja zdravila, ki zavirajo delovanje nevrohormonskega sistema (simpatični sistem in RAAS) danes predstavljajo glavni steber standardnega farmakološkega zdravljenja vsakega bolnika s HFrEF (slika 1). To skupino zdravil sestavljajo ACEi, BBs in MRAs (7).

ACEi imajo svoje prijemališče delovanja na encimu ACE (slika 1). Posledica njegovega zaviranja je zmanjšanje plazemske koncentracije angiotenzina II in posledično zmanjšanje izločanja aldosterona. Poleg tega ACEi zavirajo razgradnjo bradikininina, ki povzroča vazodilatacijo in posledično manjša sistolično breme (angl. *afterload*) levega prekata.

ARBs zavirajo čezmerno aktiviranje sistema RAAS na ravni AT1 (slika 1). Uporaba ARBs se priporoča kot nadomestno zdravljenje za ACEi pri tistih bolnikih, ki sla-

bo prenašajo stranske učinke ACEi (npr. kašelj).

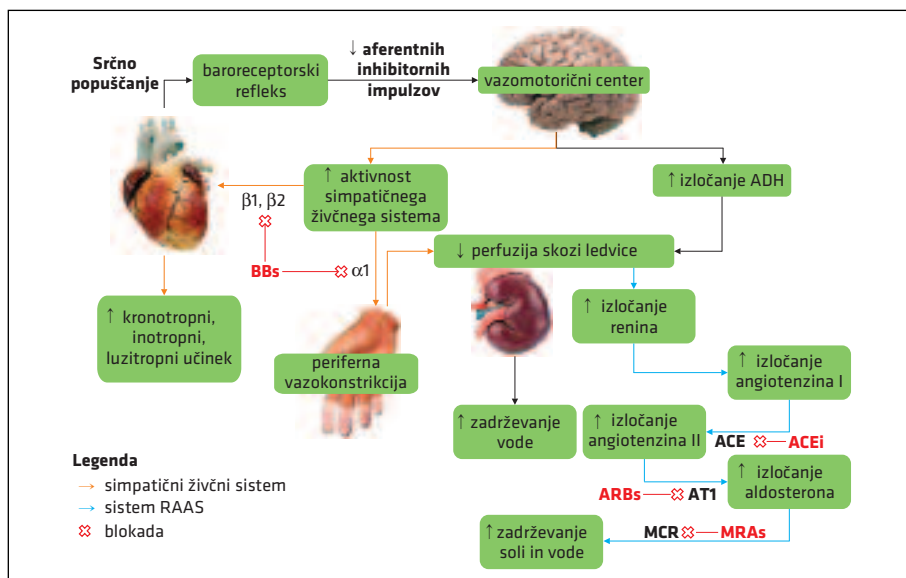
BBs preko vezave na adrenergične receptorje zavirajo učinke simpatičnega živčnega sistema (slika 1). Preko delovanja na receptorje β_1 in β_2 znižajo srčno frekvenco in zmanjšajo kontraktilnost srčne mišice, preko delovanja na receptorje α_1 pa zmanjšajo periferno vazokonstrikcijo in posredno preko izboljšanja perfuzije skozi ledvice preprečijo prekomerno aktivacijo RAAS.

MRAs se vežejo na mineralokortikoidne receptorje in tako preprečijo učinke aldosterona (slika 1). MRAs tako poleg blagega diuretičnega učinka tudi pomembno zavirajo RAAS.

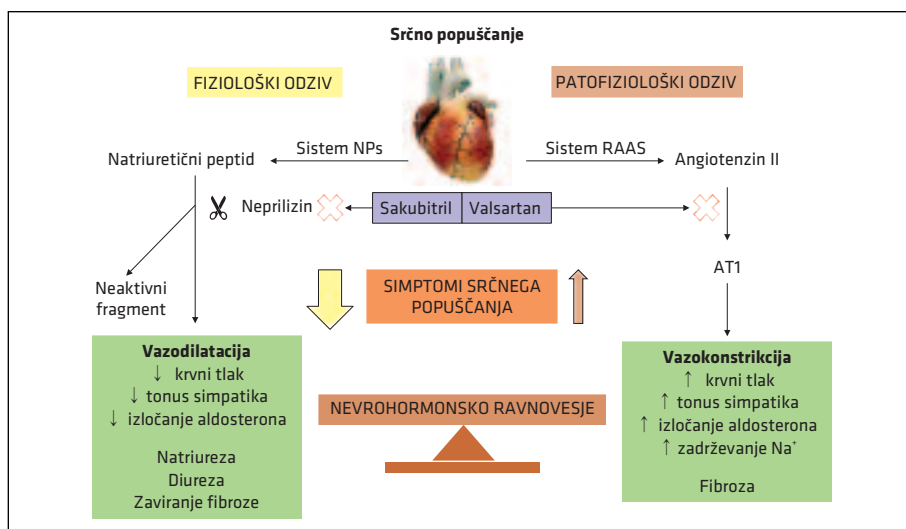
Raziskave so pokazale, da zdravila iz skupin ACEi, ARBs, BBs in MRAs uspešno znižajo umrljivost bolnikov s HFrEF in zmanjšajo število bolnišničnih obravnav zaradi poslabšanja srčnega popuščanja (8–12).

MEHANIZEM DELOVANJA SAKUBITRILA/VALSARTANA

Zaradi fiziološkega mehanizma natriuretičnih peptidov pri srčnem popuščanju so se porodile ideje, da bi spodbujanje oz. nadomeščanje natriuretičnih peptidov lahko pomagalo pri zdravljenju srčnega popuščanja. Sprva so se raziskave usmerile v razvoj rekombinantnega možganskega natriuretičnega peptida (angl. *brain natriuretic peptide*, BNP), ki pa ni bil uspešen (13). Naslednje raziskave so se nato usmerile v razvoj zdravila, ki bi zaviral encim neprilizin, ki razgrajuje natriuretične peptide, kar bi posledično zvišalo raven lastnih natriuretičnih peptidov in imelo ugodne učinke na srčno popuščanje. Prvo in do sedaj edino uspešno zdravilo s takim načinom delovanja je bilo sprva imenovano LCZ696, nato pa so ga preimenovali v sakubitril/valsartan (ime, ki ga je zdravilu nadela farmacevtska družba Novartis®, je Entresto™) (7). Sestavljeno je iz dveh komponent: sakubitrila, ki je zaviralec encima neprilizin, in valsartana, ki je ARB (slika 2). Torej učinkuje na dva dela



Slika 1. Shema aktivacije neurohormonskega mehanizma pri srčnem popuščanju in prijemališča delovanja zaviralcev različnih receptorjev. Adrenergični receptorji so na shemi prikazani le z grško črko in številko, ki označuje tip receptorja (α_1 , β_1 , β_2). ACE – encim angiotenzinske konvertaze (angl. *angiotensin-converting enzyme*), ACEi – zaviralci angiotenzinske konvertaze (angl. *angiotensin-converting-enzyme inhibitors*), ADH – antidiuretični hormon (angl. *antidiuretic hormone*), ARBs – zaviralci angiotenzinskih receptorjev (angl. *angiotensin receptor blockers*), AT₁ – receptor angiotenzina II tipa I (angl. *angiotensin II receptor type I*), BBs – blokatorji receptorjev β (angl. *β -blockers*), MCR – mineralokortikoidni receptor (angl. *mineralocorticoid receptor*), MRAs – zaviralci mineralokortikoidnih receptorjev (angl. *mineralocorticoid receptor antagonists*), RAAS – renin-angiotenzin-aldosteronski sistem (angl. *renin-angiotensin-aldosterone system*).



Slika 2. Shematski prikaz neurohormonskega sistema pri srčnem popuščanju in delovanje sakubitrida/valsartana (14). NPs – sistem natriuretičnih peptidov (angl. *natriuretic peptide system*), RAAS – sistem renin-angiotenzin-aldosteron (angl. *renin-angiotensin-aldosterone system*), AT₁ – receptor tipa 1 angiotenzina II (angl. *angiotensin II receptor type 1*)

nevrohormonskega sistema: ojača NPs tako, da prepreči razgradnjo natriuretičnih peptidov in zavira RAAS tako, da prepreči vezavo angiotenzina II na njegove receptorje. V literaturi ga najdemo tudi pod imenom zaviralec neprilizina in angiotenzinskega receptorja (angl. *angiotensin II receptor blocker neprilysin inhibitor*, ARNi), vendar bomo v nadaljevanju uporabljali ime sakubitril/valsartan, saj ARNi označuje skupino zdravil s podobnim mehanizmom delovanja in bo najverjetneje v bližnji prihodnosti na trg prišel še kakšen predstavnik te skupine zdravil.

Učinkovina sakubitril se s karboksilesterazami presnovi v aktivni metabolit LBQ657, ki zavre encim neprilizin in poveča raven natriuretičnih peptidov v plazmi. Hkrati pa posredno preko izboljšanja perfuzije skozi ledvice zavira sproščanje renina in aldosterona, zmanjša aktivnost simpatičnega živčnega sistema in zavira preoblikovanje srčne mišice (15). Valsartan pa s selektivnim zaviranjem receptorja AT1 preprečuje negativne učinke angiotenzina II na srce, žilje in ledvice, zavira pa tudi od angiotenzina II odvisno sproščanje aldosterona. Na ta način zavira prekomerno aktivacijo RAAS in njegove škodljive učinke na srčno-žilni sistem (16).

Pri standardnih zdravilih za HFrEF je linearni padec oz. porast koncentracije BNP in njegove predstopnje N-terminalnega dela možganskega natriuretičnega peptida (angl. *N-terminal prohormone brain natriuretic peptide*, NT-proBNP) v plazmi povezan z ugodnim oz. neugodnim učinkom zdravljenja (17). Pri vrednotenju uspešnosti zdravljenja s sakubitril/valsartanom pa je potrebno vedeti, da sakubitril zavira dejavnost encima neprilizin, ki razgrajuje BNP v plazmi, in je zato začasno ob uvedbi zdravila vrednost BNP povišana, kar pa ne pomeni nujno slabega odziva na zdravljenje (18). Kljub temu je možno spremljati učinek sakubitrila/valsartana preko dinamičnih sprememb koncentracije na novem nivoju BNP

po uvedbi zdravljenja. NT-proBNP pa ni substrat neprilizina, zato nekateri avtorji priporočajo, da je primernejši za spremljanje uspešnosti zdravljenja in napredovanja srčnega popuščanja pri teh bolnikih (19). Vsekakor je poleg dinamike natriuretičnih peptidov pri vrednotenju odziva na sakubitril/valsartan treba upoštevati še ostale napovedne dejavnike uspešnosti zdravljenja (prisotnost ali odsotnost kliničnih znakov in simptomov srčnega popuščanja, izboljšanje ali poslabšanje iztisnega deleža levega prekata, itd.).

Pomembnejše farmakokinetične lastnosti sakubitrila/valsartana so povzete v tabeli 1.

REZULTATI POMEBNIH KLINIČNIH RAZISKAV O SAKUBITRILU/VALSARTANU

V zadnjih nekaj letih se je število kliničnih raziskav, ki so preučevale učinke novega zdravila sakubitril/valsartan, močno povečalo. Še vedno pa ostaja raziskava PARADIGM-HF, katere rezultati so bili objavljeni leta 2014, najpomembnejša raziskava, ki je tudi posredno vplivala na preoblikovanje zadnjih priporočil Evropskega kardiološkega združenja za zdravljenje srčnega popuščanja (7, 21).

PARADIGM-HF je bila meddržavna (sodelovalo je 47 držav), randomizirana in dvojno slepa raziskava, v kateri so pri skupini bolnikov s kroničnim srčnim popuščanjem v funkcijskem razredu II–IV po lestvici newyorškega združenja za srce (New York Heart Association, NYHA) in iztisnim deležem levega prekata manj kot 40 %, primerjali učinke sakubitrila/valsartana z dobro preizkušenim zdravilom za srčno popuščanje iz skupine ACEi, enalaprilom. Raziskava je bila predčasno prekinjena zaradi pomembno boljšega izhoda zdravljenja v skupini s sakubitrilom/valsartanom. V tej skupini bolnikov je bila smrtnost pomembno manjša, manj je bilo tudi sprejetih v bolnišnično oskrbo zaradi poslabšanja srčnega popuščanja (21,8 % v skupini s sakubitri-

Tabela 1. Prikaz pomembnejših farmakokinetičnih lastnosti sakubitrida/valsartana (20).

Absorpcija
• hrana nima vpliva
• peroralna absolutna biološka uporabnost sakubitrida $\geq 60\%$
• peroralna absolutna biološka uporabnost valsartana = 23%
• po 2 urah doseže sakubitrid najvišjo koncentracijo v plazmi
• po 1 uri doseže aktivni presnovek sakubitrida LBQ657 najvišjo koncentracijo v plazmi
Porazdelitev
• sakubitrid, LBQ657 in valsartan se vežejo na plazemske beljakovine v 94–97 %, zato s hemodializo težko odstranimo zdravilo iz krvnega obtoka
• LBQ657 v manjši meri (0,28 %) prehaja preko krvno-možganske pregrade
• povprečni navidezni volumen porazdelitve sakubitrida = 103 L
Biotransformacija
• sakubitrid se s karboksilesterazami presnavlja v aktivni metabolit LBQ657
• valsartan se zelo malo presnavlja
• pri sočasni uporabi zdravil, ki vplivajo na citokrome P450, ni pričakovati pomembnega vpliva na farmakokinetiko
Izločanje
• razpolovni čas izločanja sakubitrida je 1,4 ure
• razpolovni čas izločanja aktivnega metabolita LBQ657 je 11,5 ure
• razpolovni čas izločanja valsartana je 9,9 ure
• 52–68 % sakubitrida (predvsem v obliki LBQ657) se izloči z urinom, preostanek z blatom
• 13 % valsartana se izloči z urinom, preostanek z blatom

lom/valsartanom in 26,5 % v skupini z enalaprilom). Zdravljenje s sakubitridom/valsartanom je tako absolutno zmanjšalo celokupno tveganje za smrt zaradi srčno-žilnih obolenj in bolnišnično obravnavo zaradi srčnega popuščanja za 4,7 %, medtem ko je relativno zmanjšanje tveganja v primerjavi z enalaprilom znašalo kar 20 %. Učinek zdravljenja je bil opazen že zgodaj in se je ohranil v celotnem poteku raziskave (22).

Dodatno pa je ugoden učinek na zmanjšanje tveganja za smrt zaradi srčno-žilnih obolenj in bolnišnično obravnavo primerljiv tudi v različnih starostnih skupinah in pri različnih vrednostih iztisnega deleža levega prekata (23). Prav tako je bila umrljivost primerljiva med bolniki brez pridruženih bolezni in tistimi, ki imajo npr. sladkorno bolezen, povišan krvni tlak, atrijsko

fibrilacijo, itd. (24). Rezultati raziskav nakazujejo, da ima sakubitrid/valsartan tudi ugodne presnovne učinke, saj naj bi znižal raven glikiranega hemoglobina in ugodno vplival na metabolizem holesterola (25). Zadnji izsledki pa kažejo, da ima lahko zdravljenje s sakubitridom/valsartanom tudi ugoden antiaritmiki učinek, saj so pri bolnikih s HFrEF in vstavljenim ICD, ki so prejeli sakubitrid/valsartan, beležili manj prekatnih motenj ritma (26).

Kljub pozitivnim odzivom na rezultate PARADIGM-HF, pa ne gre prezreti dejstva, da je od začetno vključenih približno 12.000 bolnikov v končno analizo bilo vključenih le približno 8.000. Velik delež izključenih bolnikov namreč v presejalnem postopku ni prenašal enalaprida ali sakubitrida/valsartana (simptomatska hipotenzija, ledvična

insuficienca, hiperkaliemija). Glede na to, kako je bila raziskava PARADIGM-HF zasnovana, lahko sklepamo, da končni rezultati v analizi veljajo za zelo ozko skupino bolnikov s HFrEF, ki mora ustrezati številnim merilom (sistolični krvni tlak > 100 mmHg, hitrost glomerulne filtracije > 30 mL/min/1,73 m², brez hude jetrne okvare, raven serumskega kalija $\leq 5,2$ mmol/L, brez znanega angioedema v preteklosti itd.) (27). Zanimivo je tudi, da je bila raziskava zasnovana na nižjem odmerku enalapрила, kot je najvišji priporočeni dnevni odmerek glede na študijo CONSENSUS, s čimer je oteženo vrednotenje primerljivosti učinkovitosti med sakubitrilom/valsartanom in enalaprilom. Ker je bilo v raziskavo vključenih zelo malo bolnikov ($< 1\%$) s srčnim popuščanjem v funkcijskem razredu IV po lestvici NYHA, se zastavlja še vprašanje glede reprezentativnosti vzorca in učinkovitosti zdravila pri najbolj simptomatskih bolnikih s srčnim popuščanjem (27). Hkrati pa je treba upoštevati, da je možen vzrok za slabo prenašanje ciljnih odmerkov sakubitрила/valsartana v presejalnem postopku raziskave lahko prehitra, toga in bolnikom neprilagojena titracijska shema in zato večja pojavnost simptomatske hipotenzije. To še posebej velja za bolnike v funkcijskem razredu IV po lestvici NYHA. Potrebne so dodatne raziskave, ki bi opredelile, ali bi z bolniku prilagojeno titracijsko shemo lahko povečali krog bolnikov s srčnim popuščanjem, ki bi jih lahko zdravili s sakubitrilom/valsartanom.

Trenutno potekajo še nekatere večje raziskave o uspešnosti zdravljenja s sakubitrilom/valsartanom pri bolnikih s HFrEF. Raziskava TRANSITION, ki še poteka, nam je dala že prve odgovore o tem, kakšen je učinek zdravljenja pri bolnikih s HFrEF in akutnim poslabšanjem srčnega popuščanja, če se začne zdravljenje v bolnišnici ali šele po odpustu v domače okolje. Predhodni rezultati nakazujejo, da je učinkovitost obeh pristopov uvajanja zdravila primerljiva (28).

V raziskavi PARADIGM-HF se je sakubitril/valsartan izkazal kot uspešen zaviralec neugodnega preoblikovanja levega prekata pri bolnikih z že znanim srčnim popuščanjem. Temu je tudi sledila ideja, da bi zdravljenje s sakubitril/valsartanom pri bolnikih po akutnem miokardnem infarktu brez predhodno znanega srčnega popuščanja lahko preprečilo neugodno preoblikovanje levega prekata in posledično razvoj simptomatskega srčnega popuščanja. V ta namen trenutno poteka večja raziskava PARADISE-MI, ki primerja uspešnost sakubitрила/valsartana pri bolnikih z znaki srčnega popuščanja po akutnem miokardnem infarktu z že preizkušenim zaviralcem angiotenzinske konvertaze ramiprilom. Rezultati raziskave, ki bodo najverjetneje znani leta 2020, nam bodo pokazali, ali tudi pri tej skupini bolnikov sakubitril/valsartan učinkoviteje zmanjša umrljivost zaradi srčno-žilnih bolezni in število bolnišničnih ter ambulantnih obravnav zaradi poslabšanja srčnega popuščanja in ali je zato celo smiselno začeti zdravljenje s sakubitrilom/valsartanom še preden izčrpamo možnosti zdravljenja z ACEi, kar nam narekujejo trenutno veljavne evropske smernice (7, 29).

Poleg raziskav, ki so primerjale učinke sakubitрила/valsartana z ACEi in ARBs pri skupini bolnikov s HFrEF, so bile že opravljene tudi prve raziskave, ki so primerjale učinke omenjenih zdravil pri skupini bolnikov s HFpEF (LVEF $\geq 45\%$) (30). Izsledki tovrstnih raziskav do zdaj še niso spremenili smernic za zdravljenje HFpEF, vendar trenutno poteka večja raziskava (31), ki nam bo boljše razjasnila možnosti uporabe sakubitрила/valsartana pri tej podskupini bolnikov s srčnim popuščanjem.

MESTO ZDRAVILA SAKUBITRIL/VALSARTAN V SMERNICAH ZA ZDRAVLJENJE SRČNEGA POPUŠČANJA

Zdravila, ki zavirajo nevrohormonski sistem (ACEi, BBs in MRAs) predstavljajo stan-

dardno zdravljenje z zdravili in se priporočajo za zdravljenje vsakega bolnika s HFrEF (7). V določenih primerih pa pri bolnikih s HFrEF poleg standardnih zdravil uporabimo še dodatna zdravila (ARBs ob močnih stranskih učinkih ACEi, zaviralec kanalčkov I_f (angl. *funny current*) (ivabradin), diuretiki, dolgodelujoči nitrati, digitalis), tudi sakubitril/valsartan. Glede na trenutno veljavna priporočila Evropskega kardiološkega združenja za zdravljenje srčnega popuščanja je uporaba sakubitrida/valsartana priporočena pri tistih bolnikih s HFrEF, ki imajo kljub optimalnemu zdravljenju z ACEi ali ARBs, BBs in MRAs še vedno simptome srčnega popuščanja. Po zadnjih priporočilih je zamenjava ACEi ali ARB s sakubitrilom/valsartanom zelo priporočena (razred priporočil stopnje I).

Kljub spodbudnim rezultatom raziskav zadnja priporočila Evropskega kardiološkega združenja za zdravljenje srčnega popuščanja hkrati opozarjajo na previdnost pri uporabi sakubitrida/valsartana zaradi morda do zdaj še nezadostnega števila objavljenih poročil glede dolgoročnega varnostnega profila zdravila in morebitnega podcenjenega števila neželenih stranskih učinkov v širši populaciji bolnikov s srčnim popuščanjem (32, 33). Kot smo že omenili, je bil pomemben delež bolnikov v uvajalnem obdobju raziskave PARADIGM-HF izločen ravno zato, ker zdravila niso prenašali, česar pa ne moremo pripisati izključno slabemu varnostnemu profilu zdravila, temveč je lahko razlog tudi toga, neprilagojena titracijska shema in neustrezno postavljen izbira merila v raziskavi. Najverjetneje bi izbor ustreznih kandidatov moral temeljiti bolj na celotni klinični sliki bolnikov in ne toliko na strogo začrtanih številčnih mejah posameznih parametrov (krvni tlak, hitrost glomerulne filtracije, raven serumskega kalija itd.). Prav tako se postavlja vprašanje, ali ni morda stopnja ledvične okvare (hitrost glomerulne filtracije $> 60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$), ki še dovoljuje uvedbo zdravila po trenutnih priporočilih, nekoliko

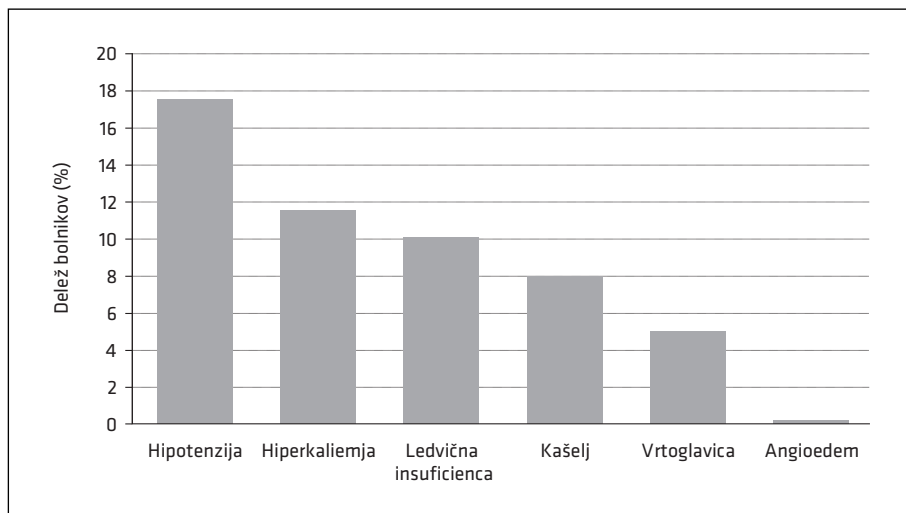
previsoka, saj so bili v raziskavi PARADIGM-HF vključeni bolniki s hitrostjo glomerulne filtracije $> 30 \text{ mL/min/1,73 m}^2$. Čeprav je po zadnjih evropskih smernicah zelo priporočena zamenjava za sakubitril/valsartan ob slabem odzivu bolnikov na standardna zdravila, kritiki raziskave PARADIGM-HF dvomijo o njeni reprezentativnosti in zato opozarjajo, da je še kako potrebna previdnost pri izboru pravih kandidatov za zdravljenje s sakubitrilom/valsartanom in da bi bilo bolj smiselno zaradi večje varnosti pri kliničnem delu uvrstiti indikacijo za uvajanje sakubitrida/valsartana v razred priporočil stopnje II (mnjenja o postopkih ali zdravljenju niso povsem zanesljiva – obstajajo tudi nasprotujoča dejstva) (34).

UPORABA IN PREDPISOVANJE SAKUBITRILA/VALSARTANA

Pri uvajanju sakubitrida/valsartana moramo biti pozorni na možne stranske učinke. Na sliki 3 so prikazani najpogostejši zabeleženi stranski učinki. Sicer so opisani stranski učinki podobni kot pri zdravljenju z ACEi ali ARBs, vendar so rezultati podrobnejše analize raziskave PARADIGM-HF pokazali, da je pri sakubitrilu/valsartanu delež hipotenzije, kašlja in angioedema večji kot pri ACEi, medtem ko je delež hiperkaliemije, predvsem ob sočasnem zdravljenju z MRAs, nižji kot pri ACEi. Delež ledvične insuficience ter vrtoglavice oz. omotice pa je primerljiv kot pri ACEi (35).

Uporaba novega zdravila sakubitril/valsartan je odsvetovana v naslednjih primerih (7):

- preobčutljivost na zdravilni učinkovini ali katero koli pomožno snov,
- sočasna uporaba z ACEi, saj se sakubitril/valsartan ne sme uvajati prej kot po preteku 36 ur od prekinitve zdravljenja z ACEi zaradi povečane možnosti nastanka angioedema in hiperkaliemije,
- anamneza angioedema zaradi predhodnega zdravljenja z ACEi ali ARBs oz. anamneza dednega ali idiopatičnega angioedema,



Slika 3. Najpogostejši neželeni učinki med uvajanjem sakubitрила/valsartana v raziskavi PARADIGM-HF (35).

- sočasna uporaba z zdravili, ki vsebujejo aliskiren, pri bolnikih s sladkorno boleznijo in pri bolnikih z okvaro ledvic (z ocenjeno hitrostjo glomerulne filtracije $< 60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$),
- huda okvara jeter, žolčna ciroza ali holestaza in
- nosečnost.

V Sloveniji se sakubitril/valsartan predpisuje in izdaja le na recept od 1. 3. 2017 dalje. Razvrščen je na vmesno listo Zavoda za zdravstveno zavarovanje Slovenije, predpisuje pa ga lahko vsak zdravnik bolnikom s simptomi srčnega popuščanja v funkcijemskem razredu NYHA II–IV kljub uvedeni zdravljenju s standardnimi zdravili za zdravljenje srčnega popuščanja v ustreznih dozah in iztisnim deležem $\leq 40 \%$.

ZAKLJUČEK

Pozitivni rezultati raziskave PARADIGM-HF so vsekakor pritegnili veliko pozornost strokovne javnosti, saj je novo zdravilo sakubitril/valsartan uspelo spremeniti smernice za obravnavo bolnikov s srčnim popuščanjem in znižanim iztisnim deležem že na podlagi ene same večje randomizirane

raziskave. Ali bo sakubitril/valsartan tudi dolgoročno uspel upravičiti svoj obstoj in pomen pri obravnavi bolnikov z napredovalim srčnim popuščanjem, pa trenutno še ostaja odprto vprašanje. Čeprav je po objavi rezultatov raziskave PARADIGM-HF sledilo nekaj kritik na osnovi statističnih podanaliz in manjših raziskav, pa te ne nosijo enake teže kot velika, multicentrična, randomizirana in dvojno slepa raziskava PARADIGM-HF. V resnici trenutno nimamo oprijemljivih dokazov, ki bi lahko ovrgli ugotovitve raziskave PARADIGM-HF, kot tudi nimamo večjega števila raziskav s podobno težo kot PARADIGM-HF, ki bi nam upravičile uvrstitev zdravila v priporočila za zdravljenje srčnega popuščanja v razred I. Treba bo tudi še počakati na zadostno število strokovnih poročil o uporabi in izkušnjah zdravstvenih delavcev z novim zdravilom pri vsakdanjem kliničnem delu. Vsekakor se do takrat svetujejo previdnost pri izboru bolnikov, skrbno spremljanje bolnikov, zdravljenih s tem zdravilom, in tudi individualiziran pristop zdravljenja vsakega posameznika v skladu s smernicami zdravljenja srčnega popuščanja z znižanim iztisnim deležem.

LITERATURA

1. Adams KF, Zannad, F. Clinical definition and epidemiology of advanced heart failure. *Am Heart J*. 1998; 135: 204–15.
2. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007; 93 (9): 1137–46.
3. Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008. *Eur Heart J*. 2008; 29 (19): 2388–442.
4. Nohria A, Tsang SV, Fang JC, et al. *Neurohormonal, renal and vascular adjustments*. In: *Atlas of heart failure: cardiac function and dysfunction*. 4th ed. Philadelphia: Current Medicine Group; 2002. p. 104.
5. Hartupée J, Mann DL. Neurohormonal activation in heart failure with reduced ejection fraction. *Nature Reviews Cardiology*. 2016; 14 (1): 30–38.
6. Ambrosy AP, Fonarow GC, Butler J, et al. The global health and economic burden of hospitalizations for heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63: 1123–33.
7. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2016; 37 (27): 2129–200.
8. The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on mortality and development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. *N Engl J Med*. 1992; 327 (10): 685–91.
9. McMurray JJ, Ostergren J, Swedberg K, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial. *Lancet*. 2003; 362 (9386): 767–71.
10. Britt K, Atheline MP, Buris C, et al. Carvedilol in the treatment of chronic heart failure: lessons from the carvedilol or metoprolol European trial. *Vasc Health Risk Manag*. 2007; 3 (1): 31–37.
11. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure: randomized aldactone evaluation study investigators. *N Engl J Med*. 1999; 341 (10): 709–17.
12. Zannad F, McMurray JJ, Krum H, et al. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. *N Engl J Med*. 2011; 364 (1): 11–21.
13. Krupicka J, Janota T, Hradec J, et al. Natriuretic peptides in heart failure. *Cor et Vasa*. 2013; 55 (4): 370–6.
14. Dargad RR, Prajapati MR, Parekh JD, et al. Sacubitril/valsartan: a novel angiotensin receptor-neprilysin inhibitor. *Indian Heart J*. 2018; 1372: 3.
15. Mangiafico S, Costello-Boerrigter LC, Andersen IA, et al. Neutral endopeptidase inhibition and the natriuretic peptide system: an evolving strategy in cardiovascular therapeutics. *Eur Heart J*. 2013; 34 (12): 886–93.
16. Egea OI, Monton CG, Roura S, et al. Mechanism of action of sacubitril/valsartan on cardiac remodeling: a systems biology approach. *NPJ Syst Biol Appl*. 2017; 3: 12.
17. Januzzi JL, Troughton R. Are serial BNP measurements useful in heart failure management? Serial natriuretic peptide measurements are useful in heart failure management. *Circulation*. 2013; 127 (4): 500–7.
18. Packer M, McMurray JJ, Desai AS, et al. Angiotensin receptor neprilysin inhibition compared with enalapril on the risk of clinical progression in surviving patients with heart failure. *Circulation*. 2015; 131 (1): 54–61.
19. Mair J, Lindahl B, Giannitsis E, et al. Will sacubitril-valsartan diminish the clinical utility of B-type natriuretic peptide testing in acute cardiac care? *Eur Heart J*. 2016; 6 (4): 321–8.
20. Kobalava Z, Kotovskaya Y, Averkov O, et al. Pharmacodynamic and pharmacokinetic profiles of sacubitril/valsartan (LCZ696) in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *Cardiovasc Ther*. 2016; 34 (4): 191–8.
21. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med*. 2014; 317 (11): 993–1004.
22. Okumura N, Jhund PS, Gong J, et al. Effects of sacubitril/valsartan in the PARADIGM-HF trial (prospective comparison of ARNI with ACEI to determine impact on global mortality and morbidity in heart failure) according to background therapy. *Circ Heart Fail*. 2016; 9 (9): 1–34.
23. Jhund PS, Fu M, Bayram E, et al. Efficacy and safety of LCZ696 (sacubitril-valsartan) according to age: insights from PARADIGM-HF. *Eur Heart J*. 2015; 36 (38): 2576–84.
24. Solomon SD, Claggett B, Desai AS, et al. Influence of ejection fraction on outcomes and efficacy of sacubitril/valsartan (LCZ696) in heart failure with reduced ejection fraction: the prospective comparison of ARNI with ACEI to determine impact on global mortality and morbidity in heart failure (PARADIGM-HF) trial. *Circ Heart Fail*. 2016; 9 (3): 1–6.
25. Seferovic J, Claggett B, Seidelmann S, et al. Effect of sacubitril/valsartan versus enalapril on glycaemic control in patients with heart failure and diabetes: a post-hoc analysis from the PARADIGM-HF trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017; 5 (5): 333–40.

26. De Diego C, González-Torres L, Núñez JM, et al. Effects of angiotensin-neprilysin inhibition compared to angiotensin inhibition on ventricular arrhythmias in reduced ejection fraction patients under continuous remote monitoring of implantable defibrillator devices. *Heart Rhythm*. 2018; 15 (3): 395–402.
27. Kaplinsky E. Sacubitril/valsartan in heart failure: latest evidence and place in therapy. *Ther Adv Chronic Dis*. 2016; 7 (6): 278–90.
28. Wachter R, Senni M, Belohlavek J, et al. Initiation of sacubitril/valsartan in hospitalized patients with heart failure with reduced ejection fraction after hemodynamic stabilization: primary results of the transition study. *European Heart Journal*. 2018; 39 (1): 1–5.
29. Zaid Iskandar M, Lang CC. Sacubitril and valsartan fixed combination to reduce heart failure events in post-acute myocardial infarction patients. *Drugs Today (Barc)*. 2017; 53 (10): 545–51.
30. Solomon S, Zile M, Pieske B, et al. The angiotensin receptor neprilysin inhibitor LC in heart failure with preserved ejection fraction: a phase 2 double-blind randomised controlled trial. *Lancet*. 2012; 380 (9851): 1387–95.
31. Solomon S, Rizkala A, Gong J, et al. Angiotensin receptor neprilysin inhibition in heart failure with preserved ejection fraction. *JACC: Heart Fail*. 2017; 5 (7): 471–82.
32. Khandwalla RM., Birkeland KT, Heywood JT, et al. AWAKE-HF: Rationale and design of a study using a wearable biosensor to objectively evaluate the effect of sacubitril/valsartan initiation on measures of physical activity, symptoms, and sleep, as health-related quality of life functions in subjects with heart Failure. 2017; 23 (8): 69.
33. Wachter R, Viriato D, Klebs S, et al. Early insights into the characteristics and evolution of clinical parameters in a cohort of patients prescribed sacubitril/valsartan in Germany. 2018; 130 (3): 308–16.
34. Smith KR, Hsu CC, Berei TJ, et al. PARADIGM-HF trial: secondary analyses address unanswered questions. *Pharmacotherapy*. 2018; 38 (2): 284–98.
35. Yancy C, Jessup M, Bozkurt B, et al. ACC/AHA/HFSA focused update on new pharmacological therapy for heart failure: an update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on clinical practice guidelines and the heart failure society of America. *Circulation*. 2016; 134 (13): 282–93.

Prispelo 18. 10. 2018

Tadeja Sotler¹, Rok Zbačnik², Polonca Kogoj³

Subaortna stenoza pri odraslem bolniku z dvolistno aortno zaklopko

Subaortic Stenosis in Adult Patient with Bicuspid Aortic Valve

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: subaortna stenoza, zožitev iztočnega trakta levega prekata, subaortna membrana, prirojene srčne napake

Subaortna stenoza je redka oblika zožitve iztočnega trakta levega prekata. Vzrok nastanka subaortne stenoze še ni pojasnjen. Običajno se pojavi v prvem desetletju življenja in nato s časom napreduje. Bolniki imajo pogosto pridružene še druge prirojene srčne napake. Zaradi subaortne stenoze je sistolično breme levega prekata povečano in vodi v hipertrofijo prekata, moteno diastolno funkcijo, pljučno hipertenzijo in dolgoročno v slabšanje sistolne funkcije obeh prekatov. Bolniki so lahko več let brez izraženih simptomov, ko ti nastopijo, pa moramo bolezen zdraviti. Postavitev diagnoze je včasih otežena, saj je klinična slika lahko podobna drugim oblikam zožitve iztočnega trakta. Diagnostična metoda izbora je ehokardiografija, ki omogoča prikaz ovire v iztočnem traktu, opredelitev stopnje zožitve in morebitnih pridruženih prirojenih srčnih napak. Za prikaz anatomske strukture si pomagamo tudi z dodatno slikovno diagnostiko, kot sta CT in MRI srca in aorte. Zdravil, ki bi upočasnila napredovanje bolezni, ni. Bolnike zdravimo s kirurško razrešitvijo stenoze, ki jo opravimo takrat, ko je zožitev huda in so bolniki simptomatski. Po srčni operaciji moramo bolnike redno spremljati, saj se subaortna stenoza lahko ponovi.

ABSTRACT

KEY WORDS: subaortic stenosis, left ventricular outflow tract obstruction, subaortic membrane, congenital heart defects

Subaortic stenosis is a rare form of left ventricular outflow tract obstruction. The exact aetiology of the disease is unknown. Usually it presents in the first decade of life, has a progressive course and is often associated with other congenital heart defects. As a consequence of stenosis the left ventricular afterload increases and leads to left ventricular hypertrophy, diastolic dysfunction, pulmonary hypertension and long-term to systolic dysfunction of both ventricles. The patients can remain asymptomatic for years but when the symptoms occur we need to intervene. The clinical presentation can mimic other forms

¹ Tadeja Sotler, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; tadeja.sotler@gmail.com

² Rok Zbačnik, dr. med., Klinični inštitut za radiologijo, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana

³ Asist. dr. Polonca Kogoj, dr. med., Klinični oddelek za kardiologijo, Interna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana

of left ventricular outflow tract obstruction and the diagnosis can sometimes be challenging. Echocardiography is an essential diagnostic tool to detect the lesion in the left ventricular outflow tract, to determine the severity of obstruction and the presence of concomitant congenital heart defects. Additional imaging modalities such as CT and MRI implement the understanding of the morphology of cardiac structures and the aorta. No treatment can prevent the progression of the disease, which is treated surgically when the stenosis is severe and patients are symptomatic. After the surgery, regular follow-up is necessary for the detection of restenosis.

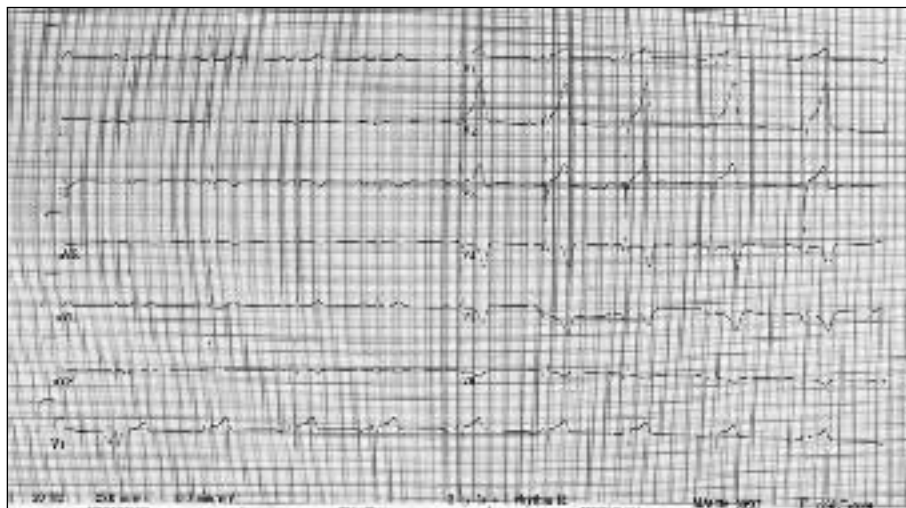
UVOD

Subaortna stenoza (SAS) je fiksna oblika zožitve iztočnega trakta levega prekata (angl. *left ventricular outflow tract*, LVOT), ki se lahko kaže z več anatomskimi različicami (1). Uvrščamo jo med prirojene srčne napake, čeprav so nekateri mnenja, da bi glede na redko pojavnost v otroštvu in njen napredujoč potek lahko šlo tudi za pridobljeno stanje (2). Klinična slika je nespecifična in jo lahko zamenjamo z drugimi pogostejšimi oblikami zožitve LVOT, kot je npr. valvularna aortna stenoza (3). Napredovanje SAS je spremenljivo, če privede do hude zožitve, moramo bolnike zdraviti s kirurško razrešitvijo. Ustrezni diagnostični

postopki so ključ do pravilne diagnoze in ustrezne obravnave (4).

PRIKAZ PRIMERA

Štiriinštiridesetletni moški, kadilec brez znanih kroničnih bolezni, je bil sprva sprejet v periferno bolnišnico zaradi bolečine v prsnem košu, ki je nastopila med naporom. Pri njem so bili odsotni izguba zavesti, vrtoglavica, palpitacije in otekanje nog. V kliničnem pregledu je izstopal sistolni šum nad prekordijem, ki je izžareval v vrat. Drugi srčni ton je bil ohranjen. V laboratorijskih izvidih nismo ugotovili posebnosti. Pri EKG so izstopali negativni valovi T v odvodih V4–V6, III in aVF (slika 1). RTG pr-



Slika 1. Elektrokardiogram. Sinusni ritem s frekvenco 60/min, normalna srčna os ter negativni valovi T v odvodih V4–V6, III in aVF.

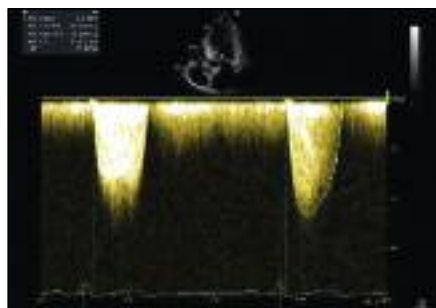
snega koša ni odstopal od normalnega stanja. UZ srca je pokazal dvolistno aortno zaklopko z visokimi hitrostmi in gradienti preko zaklopke.

Zaradi suma na hudo simptomatsko aortno stenozo je bil premeščen v Univerzitetni klinični center v Ljubljani za dodatne diagnostične postopke pred kirurško menjavo zaklopke. Ponovili smo UZ srca in potrdili, da gre pri gospodu za dvolistno aortno zaklopko. Lističa sta bila blago degenerativno spremenjena, vendar smo gle-

de na morfološki izgled zaklopke in planimetrično oceno površine aortnega ustja menili, da je zožitev zaklopke le blaga (slika 2). Zaklopka je tudi zmerno puščala. Z dopplerskim UZ srca smo potrdili visoke hitrosti in gradiente preko zaklopke in tako zaključili, da gre za hudo zožitev LVOT, ki ni bila posledica zožitve zaklopke (slika 3). Opravili smo usmerjen UZ-pregled LVOT, s katerim smo prikazali subaortno membrano (slika 4, slika 5, slika 6).



Slika 2. Transezofagealna ehokardiografija. Prikazana je dvolistna aortna zaklopka, zraščena sta nekoronarni in levi koronarni listič. Očrtano je ustje aortne zaklopke, površina znaša 2,1 cm², kar izključuje pomembno aortno stenozo.



Slika 3. Kontinuirani dopplerski prikaz toka krvi skozi iztočni trakt levega prekata in aortno zaklopko. Meritve hitrosti (najvišja hitrost 4,7 m/s) in gradientov (srednji gradient 55 mmHg) potrjujejo hudo zožitev v tem področju.



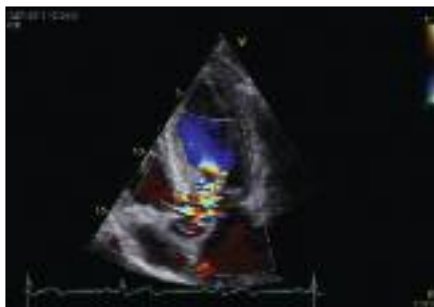
Slika 4. Transtorakalna ehokardiografija, parasternalni vzdolžni presek. Na sliki so označene mere levega prekata, ki kažejo na hipertrofijo sten levega prekata z izrazito zadebelitvijo bazalnega dela medprekatnega pretina (*). IVS – medprekatni pretin (angl. *interventricular septum*).



Slika 5. Ehokardiografija, parasternalni vzdolžni presek. V iztočnem traktu levega prekata je vidna subaortna membrana (puščica). Aortna zaklopka je primerno razprta, kar govori proti hudi zožitvi zaklopke.



Slika 6. Ehokardiografija. Apikalni presek petih votlin. V iztočnem traktu levega prekata sta vidni subaortna membrana (puščica) in zadebelitev bazalnega dela medprekatnega pretina (*). IVS – medprekatni pretin (angl. *interventricular septum*).



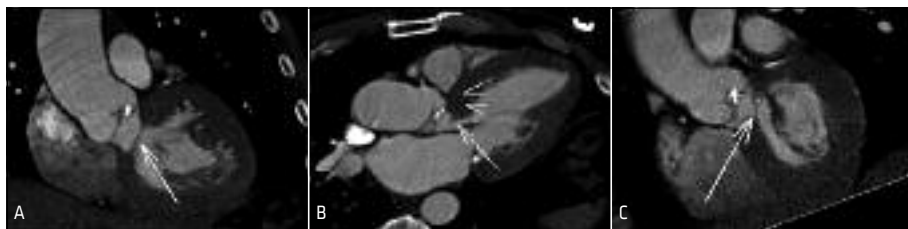
Slika 7. Barvni dopplerski prikaz turbulentnega toka v iztočnem traktu levega prekata, ki nastane zaradi zožitve.

Sočasno smo ugotovili še hipertrofijo sten levega prekata s hudo zadebelitvijo bazalnega dela medprekatnega pretina (angl. *interventricular septum*, IVS) (slika 4, slika 5, slika 6). Iztisni delež levega prekata je bil primeren, diastolna funkcija pa je bila zmerno motena. Za natančno opredelitev morfološkega izgleda LVOT in sočasen pregled prsne aorte pri bolniku z dvolistno aortno zaklopko smo opravili MRI srca in aorte. Z MRI nežne subaortne membrane nismo uspeli prikazati, izključili pa smo anevrizmatsko razširitev in koarktacijo aorte. Radiolog je svetoval še CT srca, ki je potrdil pravokotno na LVOT potekajočo polmesečasto obodno membrano ter sočasno asimetrično zadebelitev bazalnega dela IVS (slika 8). Obe strukturi sta ožili LVOT.

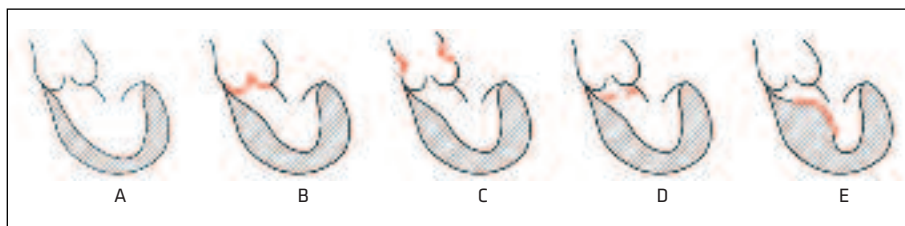
Na podlagi neinvazivne srčne diagnostike smo zaključili, da gre pri bolniku za hudo simptomatsko SAS, ki je bila posledica kombinacije subaortne membrane in zadebelitve IVS. Gospoda smo predstavili na konziliju za prirojene srčne napake, ki je svetoval kirurško odstranitev subaortne membrane in odstranitev zadebeljenega dela IVS. Ker je bila aortna zaklopka spremenjena in je že zmerno puščala, je konzilij svetoval še menjavo zaklopke. V sklopu predoperativne priprave smo izključili aterosklerozo koronarnih in vratnih arterij ter razrešili vnetna žarišča v ustni votlini. Šest mesecev po zaključeni diagnostiki je bolnik uspešno prestal omenjeni poseg.

RAZPRAVA

SAS je ena od oblik zožitve LVOT (slika 9).



Slika 8. CT z angiografijo: prilagojen prikaz treh votlin srca. Pod aortno zaklopko leži subaortna membrana, ki poteka polkrožno na iztočni trakt levega prekata (puščica) (A). Kalcinacije v lističih aortne zaklopke, subaortna membrana (puščica) in hipertrofičen sprednji bazalni del pretina (glave puščic) (B). Prilagojen prikaz dveh votlin srca v kratki osi s prikazom lege subaortne membrane glede na aortno in mitralno zaklopko (C).



Slika 9. Oblike zožitve iztočnega trakta levega prekata (angl. *left ventricular outflow tract*, LVOT). Normalen LVOT (A), valvularna stenoza aortne zaklopke (B), supravavularna stenoza (C), subavularna stenoza (D) in obstruktivna hipertrofična kardiomiopatija (E).

Epidemiologija

Običajno se SAS pojavi v prvem desetletju življenja in ima napredujoč potek (5). Incidenca prirojenih srčnih napak znaša okrog 6/10.000 živorojenih otrok, SAS pa predstavlja približno 1 % vseh prirojenih srčnih napak in 15–20 % vseh fiksnihi zožitvi LVOT. Pogostejša je pri moških kot pri ženskah. Redko jo najdemo pri novorojenčkih in majhnih otrocih (6, 7). Prisotna je pri 6,5 % odraslih s prirojenimi srčnimi napakami (8).

Izvor bolezni

Natančen izvor SAS ni znan. Nekateri menijo, da gre v osnovi za spremenjeno anatomijo LVOT, ki pripomore k nastanku turbulentnega pretoka. Ta poškoduje tkivo, kar dolgoročno vodi v brazgotinjenje, fibrozo, zadebelitev LVOT in nastanek zožitve (9, 10). Stanje se razvije in napreduje s časom ter se lahko ponovno pojavi po kirurški razrešitvi zožitve ali po popravljanju druge prirojene srčne napake, zato mnogi strokovnjaki menijo, da sodi med pridobljene in ne prirojene srčne napake (2).

Anatomske oblike

Poznamo različne anatomske oblike SAS, najpogostejše štiri so (1, 11):

- tanka membrana iz gube endokarda in vezivnega tkiva,
- vezivno-mišični greben iz zadebeljene membrane z mišično osnovo, ki izhaja iz IVS,
- difuzna zožitev LVOT v obliki tunela in

- dodatno ali nenormalno tkivo mitralne zaklopke.

V 70–80 % vseh primerov SAS gre za prvi dve obliki (1, 11). Pogosto imajo bolniki s SAS pridružene še druge prirojene srčne napake, kot so defekti medprekatnega pretina, odprt Botallov (arteriozni) vod, koarktacija aorte, dvolistna aortna zaklopka, stenoza pulmonalne zaklopke in druge kombinacije prirojenih srčnih napak (5, 12, 13). SAS se lahko pojavlja tudi v sklopu Shonovega sindroma, za katerega je značilna kombinacija štirih prirojenih obstruktivnih srčnih napak z iztočno motnjo, poleg SAS še koarktacija aorte in mitralna stenoza. Mitralna stenoza je lahko posledica supravavularne mitralne membrane in/ali mitralne zaklopke v obliki padala, ker sta oba lističa pritrjena le na eno papilarno mišico (14). Tudi pri našem bolniku smo poleg SAS ugotovili še dvolistno aortno zaklopko, medtem ko smo ostale prirojene napake s slikovno diagnostiko izključili. Veliko bolnikov s SAS ima pridruženo aortno regurgitacijo, kar smo opazili tudi pri našem bolniku. Aortna regurgitacija običajno ni hemodinamsko pomembna, lahko pa s časom napreduje ali pa se poveča po odstranitvi subaortne membrane (15).

Potek bolezni

Posledica SAS je povečano sistolično breme levega prekata, ki dolgoročno vodi v preoblikovanje levega prekata s hipertrofijo

sten. Včasih izstopa zadebelitev bazalnega dela IVS, kar vodi v še večjo zožitev. Tudi pri našem bolniku smo ugotovili poleg SAS še hudo zadebelitev IVS, ki je prispevala k zožitvi LVOT. Huda zožitev vodi sprva v moteno diastolno funkcijo levega prekata, pljučno hipertenzijo in dolgoročno v slabšanje sistolne funkcije obeh prekatov (16).

Klinična slika

Bolniki so lahko več let brez simptomov, ti pa nastopijo takrat, ko postane zožitev pomembna in se kaže z različnimi stopnjami težkega dihanja, palpitacijami, prsno bolečino, vrtoglavico ali izgubo zavesti. Z napredovanjem bolezni se pojavijo simptomi srčnega popuščanja. Bolnik iz zgoraj opisanega primera je navajal bolečino v prsnem košu med naporom, kar smo pripisali nezadostni oskrbi zadebeljene srčne mišice s kisikom. Pri kliničnem pregledu je najbolj značilna najdba sistolni šum, ki je najglasnejši levo ob prsnici in se širi v vrat (3). Za razliko od stenoze aortne zaklopke, pri kateri je v primeru hude zožitve drugi srčni ton oslavljen ali celo odsoten, je pri bolnikih s SAS drugi srčni ton ohranjen, kar smo ugotavljali tudi pri našem bolniku. Na mestu šuma lahko tipamo tudi sistolno predenje (17). Sočasna prisotnost diastoličnega šuma kaže na pridruženo aortno regurgitacijo (3).

Diagnostika

EKG in RTG prsnih organov pri postavitvi diagnoze nista ključna. EKG ostane pri nekaterih bolnikih normalen, v večini primerov s hudo zožitvijo in polovici primerov z blago zožitvijo pa vidimo znake hipertrofije levega prekata. RTG prsnih organov je pogosto normalen, lahko pokaže povečano srčno senco, medtem ko razširitev ascendentne aorte za zožitvijo ni pogosta (18).

Diagnostična metoda izbora je UZ srca. S to preiskavo opredelimo anatomijo subaortnega dela, ocenimo mere in funkcijo prekatov, morfologijo in delovanje aortne

zaklopke, neinvazivno izmerimo pljučne tlake ter dokažemo morebitne pridružene prirojene srčne napake. Značilna je membrana, ki izhaja iz membranskega dela IVS ali iz zadebeljenega mišičnega grebena nekoliko nižje v prekatu. Pogoste so tudi pritrditve na sprednji list mitralne zaklopke. Za določitev stopnje zožitve uporabljamo kontinuirano dopplersko ehokardiografijo, s katero izmerimo največjo hitrost toka krvi ter največji in srednji gradient preko zožitve v LVOT (slika 3) (19). O hudi SAS govorimo takrat, ko srednji gradient preko zožitve presega 50 mmHg in/ali ko ugotovimo znižanje iztisnega deleža levega prekata (5).

Pri našem bolniku smo z UZ srca potrdili prisotnost dvolistne aortne zaklopke, vendar pa smo glede na morfologijo zaklopke in njeno nemoteno odpiranje izključili pomembno zožitev. V LVOT smo prikazali subaortno membrano, srednji gradient je na področju zožitve znašal 55 mmHg, s čimer smo potrdili hudo SAS. Poleg tega smo ugotovili še posredne znake hude zožitve, in sicer hipertrofijo sten levega prekata z moteno diastolno funkcijo. Izključili smo pomembno patologijo drugih zaklopk in druge prirojene srčne napake. Dodatna slikovna diagnostika, kot sta CT in MRI, omogoča boljši prikaz anatomskih struktur srca in prsne aorte (15). Invazivno srčno diagnostiko običajno opravimo pri bolnikih pred kirurškim posegom za izključitev koronarne bolezni (19).

Diferencialna diagnostika

Klinična slika SAS lahko posnema druge oblike zožitve LVOT, ki so prikazane v tabeli 1. Ločevanje med omenjenimi stanji je zelo pomembno zaradi razlik v nadaljnji obravnavi bolnikov.

Poleg kliničnega pregleda je ključna slikovna srčna diagnostika. Z UZ srca opredelimo pri valvularni aortni stenozi morfologijo in funkcijo aortne zaklopke ter stopnjo zožitve, pri hipertrofični kardiomiopatiji pa stopnjo hipertrofije sten levega prekata

Tabela 1. Klinične značilnosti pri različnih tipih zožitve iztočnega trakta levega prekata (20, 21). PS – para-sternalno.

Klinični pregled	Subaortna stenoza	Valvularna aortna stenoza	Supravalvularna aortna stenoza	Obstruktivna hipertrofična kardiomiopatija
Šum	prisoten	prisoten	prisoten	prisoten
Lokacija sistolnega šuma	desno ali levo PS	desno PS v drugem medrebrnem prostoru	desno PS	nad aortno točko
Prenos	v vrat	v vrat	v vrat	v vrat
Jakost po Valsalvinem manevru	zmanjšana	se ne spremeni	zmanjšana	povečana
Posebnosti	/	/	/	pogosto pridružen sistolni šum mitralne regurgitacije
Drugi srčni ton	ohranjen	paradokсно cepljen, oslavljen/odsoten pri hudi zožitvi	ohranjen	dobro ohranjena aortna komponenta
Iztisni tlesk	/	pogost	/	redk
Pulz	normalen ali šibek, počasi rastoč (lat. <i>parvus et tardus</i>)	šibek, počasi rastoč (lat. <i>parvus et tardus</i>)	razlika med zgornjima okončinama	hiter pulzni dvig
Iktus	pomaknjen lateralno, podaljšan	podaljšan	pomaknjen lateralno, podaljšan	dvojni dvig konice

ter ločimo med obstruktivno in neobstruktivno obliko. Pri supravalvularni stenozi si z UZ srca, še natančneje pa z MRI in/ali CT, prikažemo zožitev v predelu ascendentne aorte. Pri vseh tipih zožitve LVOT invazivna srčna diagnostika v jasnih primerih za potrditev diagnoze ni potrebna, opravi pa se lahko za oceno koronarnega žilja (20, 21).

Zdravljenje

SAS običajno napreduje počasi z letnim povečanjem gradienta preko zožitve za okrog 2 mmHg (8). Zdravil, ki bi upočasnila napredovanje bolezni, ni. Bolezen zdravimo kirurško takrat, kadar so bolniki simptomatski in je srednji gradient preko zožitve večji od 50 mmHg ali kadar imajo srednji gradient preko zožitve manj kot 50 mmHg in (4):

- simptome, povezane z zožitvijo LVOT (težko dihanje ob naporu, angina pektoris, izguba zavesti),

- moteno sistolno funkcijo levega prekata,
- hudo hipertrofijo sten levega prekata, ki prispeva k zožitvi LVOT, ali
- potrebujejo drugo kirurško zdravljenje, npr. zaradi obstruktivne koronarne bolezni.

Srčni kirurg lahko sprost zožitev tako, da opravi le izrez membrane, pri difuznih zožitvah pa je potrebna rekonstrukcija LVOT (22–24). Smrtnost, povezana s kirurškim posegom, je danes v večini kirurških centrov manjša od 1 %. Možni operativni zapleti so poškodba aortne in/ali mitralne zaklopke (< 2 %), srčni bloki različnih stopenj (< 2–5 %), iatrogena okvara IVS (< 2 %) in infekcijski endokarditis (25). Ponovitev SAS po kirurškem posegu je odvisna od anatomske oblike; pogoste ponovitve (10–50 % v 10 letih) so povezane z visokim tlačnim gradientom preko LVOT pred operacijo, zožitvami

v obliki tunela in nepopolno odstranitvijo ovire (26).

Bolnike, ki niso bili operirani, spremljamo z UZ srca in sledimo napredovanju zožitve in aortne regurgitacije. Tudi bolnike po operaciji redno spremljamo, da pravočasno ugotovimo morebitno ponovitev SAS ali prepoznamo pozne zaplete (4).

ZAKLJUČEK

SAS je redka oblika zožitve LVOT, pri kateri so pogosto prisotne tudi druge priroje-

ne srčne napake. Klinična slika je nespecifična, za ločevanje med različnimi oblikami moramo uporabiti več slikovnih metod. Poleg UZ srca, ki je metoda izbora, si pomagamo tudi s CT in MRI srca ter aorte, s čimer prikažemo naravo motnje in pridobimo pomembne podatke, na podlagi katerih se odločimo o nadaljnji obravnavi bolnikov. Kirurško zdravljenje je odvisno od prisotnosti simptomov in stopnje zožitve. Po kirurški razrešitvi zožitve je pomembno bolnike redno spremljati, saj se SAS lahko ponovi.

LITERATURA

1. Bezold LI, Smith EO, Kelly K, et al. Development and validation of an echocardiographic model for predicting progression of discrete subaortic stenosis in children. *Am J Cardiol.* 1998; 81 (3): 314–20.
2. Somerville J, Stone S, Ross D. Fate of patients with fixed subaortic stenosis after surgical removal. *Br Heart J.* 1980; 43 (6): 629–47.
3. Moss AJ, Allen HD. Moss and Adams' heart disease in infants, children, and adolescents: including the fetus and young adult. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; c2008.
4. Baumgartner H, Bonhoeffer P, De Groot NM, et al. ESC Guidelines for the management of grown-up congenital heart disease (new version 2010). *Eur Heart J.* 2010; 31 (23): 2915–57.
5. Qureshi A, Awuor S, Martinez M. Adult presentation of subaortic stenosis: another great hypertrophic cardiomyopathy mimic. *Heart Lung Circ.* 2015; 24 (1): 7–10.
6. Hoffman JL, Christianson R. Congenital heart disease in a cohort of 19,502 births with long-term follow-up. *Am J Cardiol.* 1978; 42 (4): 641–7.
7. Newfeld EA, Muster AJ, Paul MH, et al. Discrete subvalvular aortic stenosis in childhood: study of 51 patients. *Am J Cardiol.* 1976; 38 (1): 53–61.
8. Oliver JM, Gonzalez A, Gallego P, et al. Discrete subaortic stenosis in adults: increased prevalence and slow rate of progression of the obstruction and aortic regurgitation. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 38 (3): 835–42.
9. Leichter DA, Sullivan I, Gersony WM. »Acquired« discrete subvalvular aortic stenosis: natural history and hemodynamics. *J Am Coll Cardiol.* 1989; 14: 1539–44.
10. Gewillig M, Daenen W, Dumoulin M, et al. Rheologic genesis of discrete subvalvular aortic stenosis: a Doppler echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol.* 1992; 19 (4): 818–24.
11. Edwards JE. Pathology of left ventricular outflow tract obstruction. *Circulation.* 1965; 31 (4): 586–99.
12. Kitchiner D, Jackson M, Malaiya N, et al. Morphology of left ventricular outflow tract structures in patients with subaortic stenosis and a ventricular septal defect. *Br Heart J.* 1994; 72 (3): 251–60.
13. Lopes R, Lourenco P, Goncalves A, et al. The natural history of congenital subaortic stenosis. *Congenit Heart Dis.* 2011; 6 (5): 417–23.
14. Shone JD, Sellers RD, Anderson RC, et al. The developmental complex of »parachute mitral valve,« supravulvar ring of left atrium, subaortic stenosis, and coarctation of aorta. *Am J Cardiol.* 1963; 11 (6): 714–25.
15. Aboulhosn J, Child JS. Left ventricular outflow obstruction. *Circulation.* 2006; 114 (22): 2412–22.
16. Ezon DS. Fixed subaortic stenosis: a clinical dilemma for clinicians and patients. *Congenit Heart Dis.* 2013; 8 (5): 450–6.
17. Criley JM, Criley DG, Zalis C. Discrete subaortic stenosis. In: The physiological origins of heart sounds & murmurs: the unique interactive guide to cardiac diagnosis [CD-ROM]. Boston, Mass: Blaufuss Medical Multimedia, Distributed by Little, Brown & Co; 1995.
18. Latson LA. Aortic stenosis: valvar, supravulvar, and fibromuscular subvalvar. In: Garson A, Bricker JT, Fisher DJ, et al. The science and practice of pediatric cardiology. Baltimore: Williams and Wilkins; 1998. p. 1257.
19. Brown DW. Subvalvar aortic stenosis (subaortic stenosis) [internet]. UpToDate; 2015 [citirano 2017 Jul 30]. Dosegljivo na: https://www.uptodate.com/contents/subvalvar-aortic-stenosis-subaortic-stenosis?source=see_link#H8
20. Baumgartner H, Falk V, Bax JJ, et al. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *Eur Heart J.* 2017; 38 (36): 2739–91.
21. Elliott PM, Anastasakis A, Borger MA, et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2014; 35 (39): 2733–79.
22. Brauner R, Laks H, Drinkwater DC Jr, et al. Benefits of early surgical repair in fixed subaortic stenosis. *J Am Coll Cardiol.* 1997; 30 (7): 1835–42.
23. Binet JP, Losay J, Demontoux S, et al. Subvalvular aortic stenosis: long-term surgical results. *Thorac Cardiovasc Surg.* 1983; 31 (2): 96–100.
24. Vogt J, Dische R, Rupprath G, et al. Fixed subaortic stenosis: an acquired secondary obstruction? A twenty-seven year experience with 168 patients. *Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 37 (4): 199–206.
25. Schneider DJ. Pediatric subvalvular aortic stenosis [internet]. Medscape; 2015 [citirano 2017 Jul 30]. Dosegljivo na: <http://emedicine.medscape.com/article/893415-overview>
26. Suri RM, Dearani JA, Schaff HV, et al. Long-term results of the Konno procedure for complex left ventricular outflow tract obstruction. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006; 132 (5): 1064–71.

Luka Tomšič Ahčin¹, Andrej Lapoša²

Redek primer zaprte rupture globoke upogibalke prsta v coni III dlani: klinični primer

A Rare Case of Closed Flexor Digitorum Profundus Rupture in Zone III of the Palm: A Case Report

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: ruptura tetive upogibalke prsta, poškodba roke, tetiva upogibalke

Zaprte ruptur tetiv upogibalk oz. fleksorjev prstov roke so redke in najpogostejše nastanejo na prirastišču tetive na kost. Opisanih je le nekaj primerov mišično-tetivnih ruptur, ki so večinoma posledica znanih pridruženih bolezni. Naš primer opisuje anamnestično klasičen mehanizem poškodbe tetive, vendar je do rupture prišlo na netipičnem mestu. Takšne poškodbe so zelo redke in v literaturi redko opisane.

ABSTRACT

KEY WORDS: flexor tendon rupture, hand injury, flexor tendon

Hand finger closed flexor tendon rupture is rare and most commonly occurs at the tendon-bone insertion. There are only a few reported cases of musculotendinous unit rupture, which are mostly due to other underlying causes. Our clinical case presents a classic mechanism of tendon injury, but with tendon rupture at an atypical location. This type of injury is very rare and only seldom described in literature.

¹ Luka Tomšič Ahčin, dr. med., Klinični oddelek za plastično, rekonstrukcijsko, estetsko kirurgijo in opeklino, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana; luka.tomsic.ahcin@gmail.com

² Andrej Lapoša, dr. med., Klinični oddelek za plastično, rekonstrukcijsko, estetsko kirurgijo in opeklino, Kirurška klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1000 Ljubljana

UVOD

Zaprte rupture tetiv mišic upogibalk roke so redke. Najpogostejše mesto zaprte poškodbe globoke upogibalke prstov (lat. *m. flexor digitorum profundus*, FDP) je izpulitev oz. avulzija tetive (angl. *jersey finger* ali *rugby finger*), pri čemer gre pri mehanizmu poškodbe za forsiran izteg v distalnem interfalangealnem sklepu (angl. *distal interphalangeal joint*, DIPJ) ob hkratnem maksimalnem skrčenju FDP. Kot pove angleško poimenovanje oblike poškodbe, je bila najpogostejše opisana pri igralcih ragbija, pri katerih se je tetiva pretrgala ob vleku za dres (angl. *jersey*). Ta vrsta poškodbe je pogosta tudi pri sprehajalcih psov, ki so hoteli psa močno zadržati, ali pri podobnih opravilih, kot je npr. vžig motorne kosilnice. Najbolj ranljiv je četrti prst.

Leddy in Packer sta opisala tri poznane oblike poškodb (1, 2). Tip I vključuje retrakcijo tetive FDP do dlani, pri čemer je potrebna čimprejšnja kirurška oskrba. Tip II vključuje retrakcijo tetive FDP do proksimalne falange; opisani so primeri uspešne kirurške oskrbe do šest tednov po poškodbi. Tip III vključuje izpulitev tetive s kostnim odlomkom, tetiva pa se skrči zgolj minimalno do tetivne objemke A4, posledično je kirurška oskrba lahko tudi odložena. Po uveljavitvi razdelitve poškodb na tri oblike je bil kasneje opisan tudi tip IV, ki je kombinacija izpulitve kostnega odlomka s prirastišča ter dodatne ruptur tetive s prirastišča. Zdravljenje tovrstne poškodbe predstavlja hkratna osteosinteza odlomka in prirastišča tetive.

Sistem tetiv upogibalk je razdeljen na pet con. Cona I obsega področje od prirastišča povrhnje upogibalke prstov (lat. *m. flexor digitorum superficialis*, FDS) na srednji falangi do prirastišča FDP na distalni falangi. Cona II, imenovana tudi kritična cona (angl. *no man's land*), je področje, kjer FDP in FDS potekata skupaj v tetivni ovojnici. Ta cona se razteza od tetivne objemke A1 (angl. *pulley*) v dlani do prirastišča FDS na



Slika 1. Cone tetiv upogibalk roke. Cone so oštevilčene od najbolj distalne proti najbolj proksimalni. Cona I vključuje zgolj eno tetivo, tetivo globoke upogibalke prstov. Cona II je kritično področje ovojnic upogibalk – vsebuje tetivi globoke upogibalke prstov in povrhnje upogibalke prstov ter je tudi področje, kjer tetiva globoke upogibalke prstov prehaja skozi tetivo povrhnje upogibalke prstov v Camperjevi kiazmi. V področju zunaj sinovijske membrane cone III prevladujejo lumbrikalne mišice. Cona IV, karpalni kanal, vsebuje tako tkivo, ki je zunaj prostora sinovijske membrane, kot tudi tisto zunaj nje. Cona V je prav tako zunaj sinovijske membrane, a brez lumbrikalnih mišic.

bazi druge falange. Cona III obsega dlan oz. območje lumbrikalnih mišic. Cona IV je območje karpalnega kanala. Cona V pa je območje, proksimalno od karpalnega kanala.

Predstavljen klinični primer opisuje zaprto rupturo FDP v coni III dlani po topi poškodbi roke med vlečenjem vrvi brez drugih znanih pridruženih bolezni.

KLINIČNI PRIMER

55-letni desničar je poiskal zdravniško pomoč zaradi nezmožnosti upogibanja prsta v DIPJ mezinca desne roke. Med delom na kmetiji je močno vlekkel vrv, ki je bila ovita okoli njegove desne dlani in nenadoma

občutil boleč tlesk v dlani. V anamnezi ni bilo drugih poškodb roke, prav tako tudi ni bilo znanih pridruženih oz. sistemskih bolezni. Do sedaj posegov na desni roki še ni imel.

Ob pregledu ni bilo mogoče tipati zatrdlin, hematoma ali sufuzije. Bolečin ni navajal. Izstopala je zgolj nezmožnost upogibanja v DIPJ petega prsta desne roke. Test funkcije FDS je pokazal, da je še vedno možen popoln upogib v proksimalnem interfalangealnem sklepu, ki je bil brez nepravilnosti.

Preiskave

RTG mezinca in karpalnega kanala ni pokazal abrupcije prirastišča tetive, kostnih deformacij ali drugih sprememb, ki bi naka-

zovale na predhodno patologijo, ki bi lahko privedla do poškodbe tetive in posledično rupture. Z namenom določitve mesta rupture je bil opravljen tudi UZ prirastišč tetiv upogibalk. Z UZ v mezinцу desne roke od tetivne objemke A1 do prirastišča tetiv ni bila ugotovljena nobena ruptura ali izpulitev FDP ali FDS.

Zdravljenje

Zaradi neskladnosti med klinično sliko in slikovno diagnostiko smo se odločili za eksploracijski operativni poseg s kirurškim pristopom na ravni tetivne objemke A1. Po topi preparaciji in prikazu tetiv FDP in FDS mezinca desnice smo izvedli test funkcije z vlečenjem (angl. *pull test*) tetiv in primerjali upogib. Ob vleku tetive FDS je bila



Slika 2. RTG mezinca brez znakov abrupcije kosti.



Slika 3. UZ tetive globoke upogibalke prstov, ki ne kaže znakov rupture ali izpultitve globoke ali povrhnje upogibalke prstov v mezinu desne roke od tetivne objemke A1 do prirastišča tetiv.



Slika 4. Bolnikova pretrgana tetiva petega prsta desnice v coni III.

izzvana normalna funkcija, pri potegu za FDP pa se je pokazala ruptura tetive proksimalno od tetivne objemke A1 v coni III. Distalna ruptura ali izpulitev nista bili vzrok poškodbe.

Izid in nadaljnja oskrba

Bolnik si je sprva želel operativnega zdravljenja, pojasnili pa smo mu vse o možnostih zdravljenja, zapletih operacije in poteku rehabilitacije. Po tehtnem premisleku se glede na svoje funkcionalne zahteve ni odločil za operativno oskrbo.

RAZPRAVA

Zaprte rupture v coni II so izjemno redke in opisi v literaturi skopi. V nekaj opisanih primerih so bili vzroki rupture okužba, predhodna poškodba, kronično ponavljajoče se poškodbe, kostne nepravilnosti po zlomih, revmatoidni artritis ali predhodna uporaba lokalnih kortikosteroidov (3–5). Rupture v coni III (lumbrikalno področje) so največkrat posledice forsiranega iztega v prstu, ki je v maksimalnem upogibu, kot je npr. delo z roko v upogibu proti uporu (6–8). Etiologija zaprtih spontanah ruptur (majhna podskupina zaprtih ruptur) še ni popolnoma znana, kar so opisali Boyes in sodelavci (4). Pri vsaki rupturi tetiv ulnarnih upogibalk je treba pregledati tudi hamulus hamatne kosti, da izključimo morebitne predhodne zlome, ki so lahko vzrok slabšanja moči tetive in posledično rupture (9). Možen vzrok rupture tetive je lahko tudi ožiljenje, saj vsaka lumbrikalna mišica prejema arterijsko prekrvavitev iz štirih različnih virov: iz povrhnjega palmarnega loka, skupne palmarne digitalne arterije, globokega palmarnega loka in dorzalnih digitalnih arterij. Zanimivo je, da ni prisotnih anastomoz med prekrvavitvijo lumbrikalnih mišic in tetiv FDP v dlani. Kot vzrok ruptur je bilo predlagano tudi mejno področje med omenjenima ločenima področjema prekrvavitve (angl. *watershed*) (10, 13). Pri opisanem kliničnem primeru je ruptura

nastala v tem manj ožiljenem, lumbrikalnem področju, kar bi lahko bil vzrok poškodbe.

Bois in sodelavci so v raziskavi pregledali 43 opisanih primerov spontanah ruptur tetiv FDP. V 80 % so se pojavile v coni III, v 64 % je bil prizadet meziniec, v 14 % prstanec, v 10 % sredinec in zgolj v 4 % kazalec (11).

Klinično je izjemno težko določiti mesto poškodbe tetive. V vsakem primeru je priporočljivo opraviti slikovno diagnostiko. Običajno je najbolj dostopen UZ, v določenih primerih je opisana tudi uporaba MRI. Slikovna diagnostika predstavlja del dobre predoperativne priprave, saj se lahko izognemo nepotrebnim rezom in posledičnim zapletom (npr. adhezijam). Če kljub slikovni diagnostiki vzrok izpada funkcije ni jasen, lahko naredimo manjši kirurški rez nad tetivno objemko A1. S tem prikažemo tetive in neposredno preverimo njihovo funkcijo, hkrati pa lahko tudi podaljšamo oz. razširimo rez, če se odločimo za rekonstrukcijo tetive. Ob tem je mogoče izključiti tudi patologijo na ravni tetivne objemke A1, kjer je lahko vzrok nezmožnosti upogibanja prsta tudi stenozirajoči tendovaginitis. Seveda nas na prisotnost tendovaginitisa običajno opozori že anamneza oz. predhodne težave.

V opisanem kliničnem primeru je šlo za redko obliko zaprte (spontane) rupture FDP v coni III, zato UZ ni zajel dovolj velikega področja. Na podlagi anamneze in odsotnosti znanih pridruženih bolezni nismo pričakovali rupture na neobičajnem mestu, zato ni bil pregledan celoten potek tetive. Ne glede na slikovno diagnostiko je zelo pomembna klinična ocena funkcije tetive, ki je v opisanem primeru ni bilo.

Če bi se opisani bolnik odločil za nadaljevanje zdravljenja, bi bil kandidat za primarni šiv oz. rekonstrukcijo tetive, saj poškodba ni bila starejša od treh tednov. V primerih poškodb, starejših od treh tednov, primarni šiv ni možen, lahko pa uporabimo druge oblike rekonstrukcije, kot je npr. interpozicija tetivnih presadkov ali prenosa tetiv (12).

ZAKLJUČEK

Večina literature prikazuje mehanizme poškodb tetiv upogibalk, ki so posledica forsiranega upogiba proti upor, z najpogostejšim mestom poškodbe na prirastišču tetive na kost (izpulitev). Po drugi strani pa so opisane tudi nekatere bolezni, stanja ali predhodne poškodbe, ki povečajo verjetnost ruptur (13, 14). V našem primeru ni bilo znanih pridruženih bolezni, ki bi lahko vplivale na tetive, prišlo je do spontane rupture

tetive FDP v coni III. Namen opisa kliničnega primera je opozoriti na redko možnost rupture tetive na netipičnem mestu ter posledično potrebo po natančnem pregledu (tako kliničnem kot UZ) celotnega poteka tetive, če je prisoten izpad funkcije. Poudariti je treba, da je v primeru nezmožnosti upogiba (ali iztega) prsta pred operativnim pristopom nujno treba napraviti temeljit klinični pregled in slikovno diagnostiko (UZ ali morda celo MRI).

LITERATURA

1. Leddy JP, Packer JW. Avulsion of the profundus tendon insertion in athletes. *J Hand Surg Am.* 1977; 2 (1): 66–9.
2. Leddy JP. Flexor tendon acute injuries. In: Green DP, ed. *Operative Hand Surgery.* New York: Churchill Livingstone; 1993. p. 1823–52.
3. Rae PS, Finlayson D. Closed rupture of flexor pollicis longus tendon associated with treatment of Bennett's fracture. *J Hand Surg Br.* 1984; 9 (2): 129–30.
4. Boyes JH, Wilson JN, Smith JW. Flexor tendon ruptures in the forearm and hand. *J Bone Joint Surg Am.* 1960; 42-A: 637–46.
5. Folmar RC, Nelson CL, Phalen GS. Ruptures of the flexor tendons in hands of non-rheumatoid patients. *J Bone Joint Surg Am.* 1972; 54 (3): 579–84.
6. Naam NH. Intratendinous rupture of the flexor digitorum profundus tendon in zones II and III. *J Hand Surg Am.* 1995; 20 (3): 478–83.
7. Imbriglia JE, Goldstein SA. Intratendinous ruptures of the flexor digitorum profundus tendon of the small finger. *J Hand Surg Am.* 1987; 12 (6): 985–91.
8. Yang SS, McCormack RR, Weiland AJ. Closed rupture of the flexor digitorum profundus tendon in the palm of a non-rheumatoid patient. *Orthopedics.* 1998; 21 (2): 205–8.
9. Jebson PJ, Ferlic RJ, Engber WF. Spontaneous rupture of ulnar-sided digital flexor tendons: don't forget the hamate. *Iowa Orthop J.* 1995; 15: 225–7.
10. Zbrodowski A, Mariéthoz E, Bednarkiewicz M, et al. The blood supply of the lumbrical muscles. *J Hand Surg Br.* 1998; 23 (3): 384–8.
11. Bois AJ, Johnston G, Classen D. Spontaneous flexor tendon ruptures of the hand: case series and review of the literature. *J Hand Surg Am.* 2007; 32 (7): 1061–71.
12. Melamed E, Fineberg SJ, Beldner S. Closed rupture of the flexor profundus tendon of ring finger: case report and treatment recommendations. *Am J Orthop (Belle Mead NJ).* 2015; 44 (8): 373–5.
13. Li WY, Rommer E, Kulber DA. Bilateral spontaneous flexor digitorum profundus tendon rupture of the fifth digit: case report and literature review. *Hand (N Y).* 2013; 8 (2): 239–41.
14. Patel AP, Wong KY. Spontaneous flexor tendon rupture in the palm. *BMJ Case Rep.* 2015: bcr2014208141.

Vanessa Koračin¹

Dojenček z vročino, kašljem in napetim trebuščkom

Na pediatrični oddelenk sprejmete desetmesečnega dojenčka, ki je bil k vam napoten iz obrobne bolnišnice z diagnozo laringitis in hepatomegalija. Že dva dni ima povišano temperaturo do 39 °C, močno kašlja, je nerazpoložen in jokav. Predhodno je že prejel inhalacije deksametazona in adrenalina. Mama pove, da sicer pogosto hitro diha. Ves čas ima trebušne kolike, na zadnjem sistematskem pregledu je dobil napotnico za UZ trebuha. Sedeč položaj mu ne odgovarja, najraje je v štirinožnem položaju.

Iz anamneze izveste, da je mama imela nosečnostno sladkorno bolezen, zdravljeno z dieto. Rojen je bil v 40. tednu nosečnosti, porod je bil sprožen zaradi oligohidramnija. Porodna teža je bila 3560 g, dolžina pa 54 cm. Zaradi okužbe je prvih pet dni po porodu prejemal antibiotično zdravljenje, potreboval je tudi dodatek kisika v vdihanem zraku. Poleg tega je imel zlatenico, zaradi katere je 48 ur prejemal dvojno kontinuirano fototerapijo. Dojen ni bil. V starosti deset dni je bil hospitaliziran zaradi »polivanja« in slabšega pridobivanja na teži. Do sedaj je prebolel že dve virusni okužbi. V družini ni kroničnih bolezni.

Ob pregledu izmerite povišano telesno temperaturo (39,1 °C), $\text{SaO}_2 = 100\%$, pulz = 163/min. Opazite laringitičen kašelj, nad pljuči je slišno poostreno dihanje brez inspiratornega stridorja. Žrelo ni pordelo, ne tipate povečanih vratnih bezgavk. Trebušček je nad nivojem prsnega koša, palpatorno je občutljiv, tipna so močno povečana jetra.

Vprašanja

1. Kakšna je vaša delovna diagnoza, poleg že diagnosticiranega laringitisa?
2. Kateri znaki in anamnestični podatki so v skladu z vašo delovno diagnozo?
3. Katere so možne diferencialne diagnoze?
4. Kako bi postavili diagnozo bolezni?
5. Kakšna je etiopatogeneza bolezni?
6. Kako bi zdravili bolezen?
7. Kakšna je prognoza bolezni?

Odgovore na vprašanja najdete na naslednji strani.

¹ Vanessa Koračin, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; vanessa.koracin@gmail.com

Odgovori

1. Glikogenoza tipa 1b. Glikogenoze (angl. *glycogen storage disease*, GSD) so prirojene motnje v presnovi glikogena, ki predstavlja glavni način skladiščenja ogljikovih hidratov v telesu. Molekula glikogena je sestavljena iz do 60.000 molekul glukoze, ki so med seboj povezane v ravne verige z α -1-4 vezmi, razvejanost molekule pa omogočajo α -1-6 vezi. Nahaja se predvsem v jetrih, kjer služi kot rezerva glukoze za ohranjanje normoglikemije med obroki, in mišicah. Encimske motnje lahko nastopijo na vseh stopnjah sinteze in razgradnje glikogena. Na podlagi manjkajočega ali nedelujočega encima in prizadetosti različnih tkiv (najpogostejše jetra, mišice ali oboje) delimo GSD na več kot 12 tipov. Skupna incidenca je ocenjena na 1/20.000 do 43.000 rojstev, najpogostejša oblika pa je tip IX. Incidenca GSD I je ocenjena na 1/100.000 rojstev, kar predstavlja 30 % vseh jetrnih GSD. GSD Ib je redkejša oblika te bolezni, ima jo 20 % bolnikov s tipom I. Deduje se avtosomno recesivno (1–3).
2. Pogoste okužbe, hepatomegalija, trebušne kolike, pospešeno dihanje in slabše pridobivanje na teži. GSD I spada v skupino jetrnih GSD, skupaj z GSD III, -VI in -IX. Bolezen se ponavadi izrazi v starosti treh do šestih mesecev s simptomi hipoglikemije (zasplostjo, tahipnejo ali apnejo, tremorjem, povečanim znojenjem in konvulzijami) in zaostankom v razvoju. Gre za čas prehoda iz mleka na mešano hrano, vzrok znakov bolezni pa leži v podaljševanju časovnih obdobij med posameznimi hranjenji, ki zaradi neuspešne glikogenolize in glukoneogeneze povzročijo hipoglikemijo in laktacidozo. Pri starejših otrocih se lahko kaže z okroglim, lutki podobnim obrazom, izbočenim trebuhom, relativno tankimi udi, napadi lakote in zaostankom v rasti. Zaradi kopičenja glikogena in maščobe v jetrih pride do hepatomegalije. Lahko pride do trombocitopenije in pogostih epistaks. Poleg tega se pri GSD Ib pojavi še nevtropenija, zaradi motene maturacije celic mieloidne vrste in funkcionalnih napak v krožečih nevtrofilcih in monocitih. Nevtropenija je lahko stalna ali ciklična, pri približno dveh tretjinah pacientov pa se prva epizoda pojavi pred starostjo 12 mesecev. Pogoste so bakterijske okužbe in ulceracije ustne sluznice. Ob okužbah so hipoglikemije pogostejše zaradi zmanjšanega apetita. Do pubertete se pri večini pacientov z GSD Ib pojavi še Crohnovi bolezni podobna vnetna črevesna bolezen, ki najbolj prizadene tanko črevo (1–3).
3. Pomisliti moramo še na ostale oblike GSD, predvsem na tip III. Pomanjkanje amilo-1-6-glukozidaze lahko povzroči podobno klinično sliko, vendar so hipoglikemije blažje, zaradi intaktne glukoneogeneze. Vrednosti laktata in sečne kisline sta ponavadi v mejah normale, jetrni encimi pa so bolj povišani kot pri tipu I. Čeprav je GSD I najtežja oblika jetrnih GSD, lahko pride tudi do hudih primerov GSD VI in IX. Do motenj v glukoneogenezi lahko pride tudi pri pomanjkanju fruktoza-1,6-difosfataze. V tem primeru bolniki prenesejo daljša obdobja stradanja (8–10 ur), jetra pa niso povečana. Z UZ trebuha in kliničnimi podatki izključimo še primarne jetrne tumorje in Pepperjev sindrom (zasevke nevroblastoma v jetrih) (2, 3).
4. Diagnozo potrdimo s kombinacijo biokemičnih in genetskih testov. Po kratkem obdobju stradanja (treh do štirih urah) se pri bolnikih pojavi hipoglikemija in hiperlaktatemija. Serum je lipemičnega izgleda zaradi hiperlipidemije. Povišani so predvsem trigliceridi in lipoproteini majhne ter zelo majhne gostote, lipoproteini visoke

gostote pa so znižani. Prisotni so hiperurikemija, hipoacetonemija, hipoinzulinemija in hiperglukagonemija. Normoglikemija po 24-urnem stradanju ne izključi diagnoze GSD Ib pri bolniku s hepatomegalijo (1–3). Izvedemo lahko tudi funkcionalno testiranje z glukagonom, kjer bolniku dve uri po obroku, bogatem z ogljikovimi hidrati, injiciramo glukagon (1 mg/m² telesne površine). Po injekciji ne pride do normalnega glikemičnega odziva, vrednost laktata pa se poveša. Slednja se poveša tudi po zaužitju saharoze in laktoze, raven glukoze v krvi pa se minimalno ali pa sploh ne poveša (2, 3). Današnje metode omogočajo sekvenciranje gena SLC374A, ki kodira glukoza-6-fosfat translokazo (angl. *glucose-6-phosphate translocase*, G6PT), na kromosomu 11q23. Znanih je več kot 81 mutacij, ki povzročijo GSD Ib. Pri družinski obremenjenosti lahko izvedemo tudi prenatalno diagnostiko iz DNK horionskih resic ali amnijske tekočine (3). Če ne odkrijemo mutacije, še vedno pa ostaja sum na GSD, lahko opravimo encimske teste na bioptatu svežih jeter. Na GSD Ib kaže zmanjšana hidroliza glukoze-6-fosfat (G6P) ob intaktnih mikrosomih in normalna aktivnost glukoza-6-fosfataze v poškodovanih mikrosomih (2).

5. Funkcija beljakovine G6PT, katerega gen je okvarjen pri GSD Ib, je transport molekul G6P iz citoplazme v lumen endoplazemskega retikuluma. Tam pride v stik s katalitičnim mestom glukoza-6-fosfataze- α ali - β in se hidrolizira v glukozo in fosfat. Transportna aktivnost je odvisna od zmožnosti G6PT, da tvori funkcionalno enoto z glukoza-6-fosfatazo. Če je ta odsotna, je aktivnost G6PT minimalna. Posledično je G6PT nujna za ohranjanje primerne ravni glukoze v krvi med obroki in energijo za mieloidne celice. GSD Ib je tako presnovna kot imunska motnja. Jetra in v manjši meri ledvice ter črevesje so primarni glukoneogenezni organi, ki regulirajo homeostazo glukoze. Ko raven glukoze med obroki pade, se G6P, ki nastane v glukoneogeneznih in glikogenoliznih organih, preko G6PT transportira v endoplazemski retikulum. Tam jo glukoza-6-fosfataza- α hidrolizira v fosfat in glukozo, ki se nato sprosti v kri. Okvarjeni kompleks glukoza-6-fosfataza- α /G6PT tega procesa ne izvrši, zato se raven glukoze ne dvigne. Povišana koncentracija citoplazemske G6P povzroči kopičenje glikogena v teh tkivih, kar povzroči hepatomegalijo in v nekaterih primerih nefromegalijo. Hepatomegalija se še poslabša zaradi kopičenja lipidov. Hiperlipidemija in hiperurikemija sta posledici preusmeritve presnovkov po drugih, alternativnih poteh. Nevtropenija in mieloidna disfunkcija sta posledici okvare glukoza-6-fosfataza- β /G6PT kompleksa v mieloidnih tkivih. Nevtrofilci za delovanje in preživetje potrebujejo stalno zalogo glukoze, vendar je sami ne morejo proizvesti preko glukoneogeneze. Primarni vir glukoze je tako privzem le-te iz krvi. Obstajajo tri poti, ki so odgovorne za zagotavljanje glukoze v nevtrofilcih – glikoliza, heksozni monofosfatni spoj in kroženje glukoze v endoplazemskem retikulumu. Zadnja stopnja je urejena s kompleksom glukoza-6-fosfataza- β /G6PT. V okvarjenih nevtrofilcih sta laktat in ATP močno znižana. Poleg tega je zmanjšano izražanje in aktivacija oksidaze nikotinamid adenin dinukleotid fosfata (oksidaze NADPH), encima, ki omogoča nastanek reaktivnih kisikovih spojin. Posledično inaktivacija katerekoli komponente kompleksa poruši energijsko ravnovesje v nevtrofilcih, kar vodi do manjšega respiratornega izbruha, kemoakse, toka kalcija in fagocitotske aktivnosti. Po podobnem principu so lahko okvarjeni tudi makrofagi (2, 4).

6. Smernice Ameriškega kolidža za medicinsko genetiko in genomiko (angl. American College of Medical Genetics and Genomics) priporočajo obravnavo bolnika v multidisciplinarnem

timu, ki ga vodi zdravnik, specializiran za presnovne bolezni, genetik, endokrinolog ali hepatolog. Ta koordinira zdravljenje in tesno sodeluje z dietetikom. Po potrebi v zdravljenju sodelujejo še specialist nefrolog, hepatolog, hematolog, genetik in kardiolog. Če je indicirana presaditev jeter ali ledvic, se timu pridruži še specialist za transplantacijsko medicino (5).

Bistvenega pomena za bolnika z GSD Ib je ustrezna dieta, s katero zmanjšamo pojav hipoglikemij med obroki in z njimi povezanim iztirjenjem presnove. Spremljamo tako količino in čase hranjenja, kot tudi vzorce spanja, prebavne motnje, dodajanje vitaminov in mineralov, simptome hipoglikemije in vrednosti glukoze v krvi. Vrednosti glukoze in laktata lahko spremljamo s sistemi za kontinuirano merjenje (2, 5). Za preprečevanje hipoglikemij uvedemo pogoste manjše obroke, bogate s sestavljenimi ogljikovimi hidrati, enakomerno razporejene preko celega dne in noči. V pomoč nam je lahko hranjenje po nazogastrični sondi preko noči. Ciljna vrednost glukoze je > 4 mmol/l. Prehrana naj bi vsebovala 60–70 % ogljikovih hidratov, 10–15 % beljakovin, ostale kalorije pa pridobimo z vnosom maščob. Kot posledica nedelovanja glukoza-6-fosfataze, se tudi fruktoza in galaktoza ne pretvarjata v G6P. Čeprav to prispeva k iztirjenju presnove, ni enotnega mnenja o omejevanju teh sladkorjev v prehrani. Dojenčke hranimo s posebno formulo na osnovi soje brez sladkorja ali brez saharoze, fruktoze in laktoze. Zaradi številnih ugodnih učinkov dojenje ni kontraindicirano. Ko prespijo daljši del noči, lahko razmislimo o uvedbi nazogastrične ali želodčne cevke ali pa nadaljujemo z bujenjem na tri do štiri ure za hranjenje. Pri bolnikih z GSD Ib in nevtropenijo obstaja povišano tveganje za okužbe ob vstavitvi želodčne cevke, zato to vstavimo le ob hkratnem zdravljenju z granulocitne kolonije stimulirajočim faktorjem (angl. *granulocyte colony-stimulating factor*, G-CSF). Pri starosti šestih mesecev lahko začnemo z dohranjevanjem in uvedbo nekuhanega koruznega škroba, ki se presnavlja počasi in tako poskrbi za počasno sproščanje in stabilno raven glukoze v krvi preko daljšega časovnega obdobja. Zaradi nezrelosti prebavnega trakta in pomanjkanja pankreatične amilaze ga nekateri otroci do drugega leta starosti ne prebavljajo. Preveč škroba in ogljikovih hidratov lahko povzroči povečanje telesne teže, hepatomegalijo ali nihanje koncentracije glukoze zaradi povišanega izločanja inzulina, prevelik vnos beljakovin pa lahko poslabša hiperurikemijo. Zaradi diete lahko pride do pomanjkanja vitaminov B, C, D, cinka, železa in kalcija. V pediatrični ambulantni redno preverjamo stanje presnove in razvoj otroka ter po potrebi prilagodimo dieto. Vsak bolnik potrebuje tudi urgentni protokol za primer hipoglikemije (npr. ob bolezni). Bolniku v tem primeru damo hitro delujoč vir glukoze, nato pa prigrizek ali koruzni škrob. V bolnišnici po potrebi uvedemo parenteralno glukozo (2, 5).

Zdravimo tudi dolgoročne zaplete bolezni. Ker imajo bolniki povišano tveganje za osteoporozo, redno merimo kostno gostoto in raven vitamina D. Ob hiperlaktatemiji lahko uvedemo natrijev bikarbonat. Ta tudi alkalizira urin, s čimer se zmanjša nevarnost pojava ledvičnih kamnov. Ob hiperurikemiji in nagnjenosti k protinu predpišemo alopurinol in s purini revno prehrano. Hiperlipidemija se ponavadi uredi s primerno dieto. Če vrednost trigliceridov preseže 11,4 mmol/l lahko uvedemo fibrate in ribje olje, s čimer zmanjšamo nevarnost s hiperlipidemijo povzročenega pankreatitisa (2). Presnovno neravnesje in odlaganje glikogena lahko pri bolnikih že v otroštvu povzroči ledvično bolezen, v obliki proksimalne in distalne tubularne disfunkcije, pa tudi poškodbe glomerulov, ki vodi v kasnejšo ledvično odpoved. Izguba bikarbonata, fosfata, glukoze in aminokislin v proksimalnem tubulu se ponavadi zmanjša z ustrežno dieto in izogibanjem hipoglikemijam. Večje izločanje citrata in s tem manjšo možnost za nastanek

ledvičnih kamnov dosežemo z oralnim jemanjem kalijevega ali natrijevega citrata. Tiazidni diuretiki povečajo reabsorpcijo kalcija, preventivno pa pred ledvičnimi kamni deluje tudi ustrezna hidracija, dieta brez dosoljevanja in magnezijevi dodatki. Posledica fokalne segmentne glomerulne skleroze je mikroalbuminurija, kasneje pa proteinurija in hipertenzija. Bolnikom uvedemo zdravljenje z zaviralci angiotenzin-konvertaze ali sartani. Redno nadziramo ledvično funkcijo, morebitno nefromegalijo ali nefrokalcinozo pa pravočasno ugotovimo z UZ ledvic. Anemijo zaradi ledvične insuficience zdravimo z eritriopetinom. Ker je pri bolnikih z GSD I pogost vzrok anemije pomanjkanje železa, pred uvedbo terapije z eritriopetinom preverimo še zaloge le-tega. Izogibamo se uporabi nefrotoksičnih zdravil. V končni fazi ledvične bolezni bolniki potrebujejo dializno zdravljenje, možna je tudi hkratna presaditev jeter in ledvic (5).

Bolnikom z GSD Ib in nevtropenijo navadno uvedemo zdravljenje z G-CSF. Zaradi toksičnih učinkov se priporoča kratkoročno zdravljenje z najmanjšo možno dozo. Začetno dozo (do približno 2 µg/kgtt/dan) apliciramo subkutano vsak dan ali vsak drugi dan. Dozo povečujemo na dva tedna, dokler ne dosežemo ciljne vrednosti nevtrofilcev, ki je nad $1,0 \times 10^9/l$. Neželeni učinki so odvisni od odmerka, najbolj pogost resen neželeni učinek je hipersplenizem, pojavljajo se tudi splenomegalija, hepatomegalija in kostna bolečina. Poročali so nastanku akutne mieloične levkemije in ledvičnega karcinoma ob dolgoročni uporabi, zato se zahteva stalno spremljanje krvne slike. Rutinske aspiracije kostnega mozga ali biopsije niso več priporočene. Terapija z G-CSF znatno zmanjša pojav okužb in izboljša črevesno bolezen pri bolnikih z GSD Ib (2, 5).

Zaradi nevarnosti maligne preobrazbe hepatičnih adenomov ali ob refraktarni hipoglikemiji nekateri bolniki potrebujejo presaditev jeter. Po njej se hipoglikemija izboljša, nevtropenija pa je ponavadi še vedno prisotna. Adenome redno spremljamo z UZ jeter (1, 2). Trenutno potekajo raziskave o morebitnem genskem zdravljenju bolezni.

7. Zgodnje odkritje bolezni in pravočasno ter primerno zdravljenje z dieto sta zmanjšala umrljivost in obolevnost, večina bolnikov lahko živi precej normalno življenje. Tudi možganske funkcije so dolgoročno normalne, če preprečimo hipoglikemije. Pri bolnikih z GSD Ib je včasih težje doseči dober nadzor nad presnovo zaradi pogostih infekcij in vnetne črevesne bolezni (2, 3). Proksimalna tubulna disfunkcija se ob dobrem nadzoru presnove izboljša, distalna pa lahko tudi ob optimalni dieti vodi do hiperkalciurije in hipocitaturije. Napredujoča ledvična bolezen se začne s hiperfiltracijo že v prvih letih življenja, kasneje (v prvih dveh desetletjih) se pojavita še mikroalbuminurija in hipertenzija. Ledvična odpoved se lahko pojavi med tretjim in petim desetletjem (2). Najpogostejši zaplet bolezni so hepatični adenomi, ki jih ima 70 % bolnikov ne glede na uspešnost zdravljenja. Večina adenomov se pokaže v puberteti, nekateri pa že v otroštvu. Lahko zakrvavijo ali se maligno preobrazijo. Ob imunosupresivnih zdravilih po presaditvi jeter se lahko pri bolnikih z GSD I poslabša ledvična funkcija (2). Pogosta je osteoporoza z normalnimi vrednostmi kalcija, fosfata, paratiroidnega hormona in vitamina D. Nastane zaradi sistemske acidoze, povišane ravni kortizola, pozne pubertete, nezadostnega vnosa kalcija s prehrano in premalo gibanja (2). Anemija lahko nastane zaradi pomanjkanja železa ali krvavečih adenomov. Slednji izločajo hepcidin, ki nadzira izločanje železa iz intestinalnih celic in makrofagov. Pri GSD Ib je hepcidin induciran tudi z IL-6, ki nastaja zaradi vnetne črevesne bolezni. Vzrok za anemijo je lahko tudi slabša ledvična funkcija (2, 5). Bolniki z GSD Ib imajo večjo prevalenco avtoimunih bolezni ščitnice in hipotiroidizma (1). Pri bolnicah se lahko pojavijo policistični jajčniki.

Kot posledica slabega nadzora nad presnovo se lahko razvije pljučna hipertenzija, kljub hiperlipidemiji pa ni povečane umrljivosti zaradi srčno-žilnih bolezni (2). Bolnice z GSD lahko zanosijo, vendar jih moramo bolj pozorno spremljati. V tretjem trimesečju se pojavi večja potreba po glukozni. Nosečnost lahko poslabša že prisotno ledvično bolezen (2, 6).

ZAHVALA

Zahvaljujem se doc. dr. Urhu Grošlju, dr. med., za predlagano tematiko, strokovno pomoč in podporo pri pisanju ter konstruktivne nasvete.

LITERATURA

1. Özen H. Glycogen storage diseases: new perspectives. *World J Gastroenterol.* 2007; 13 (18): 2541–53.
2. Laforet P, Weinstein DA, Smit PA. The glycogen storage diseases and related disorders. In: Saudubray JM, et al., eds. *Inborn metabolic diseases.* Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2012. p. 116–22.
3. Froissart R, Piraud M, Mollet Boudjemline A, et al. Glucose-6-phosphatase deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2011; 6: 27.
4. Chou JY, Jun HS, Mansfield BC. Neutropenia in type Ib glycogen storage disease. *Curr Opin Hematol.* 2010; 17: 36–42.
5. Kishnani PS, Austin SL, Abdenur JE, et al. Diagnosis and management of glycogen storage disease type I: a practice guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2014; 16 (11): e1.
6. Ferrecchia IA, Guenette G, Potocik EA, et al. Pregnancy in women with glycogen storage disease Ia and Ib. *J Perinat Neonat Nurs.* 2014; 28 (1): 26–31.

V spomin: Irena Krapež (1993–2019)

...

*Pa se spusti z oblaka ptica
k otrokom na hišni prag
in kljukne najmlajšega v lica:
Pridi. Pojdeva sonce brat!*

*In sta zletela gor proti nebu
in potonila v teman ocean.
Odtlej je eno sonce več na nebu
in eno sonce na zemlji manj.*

Huda ptica, Tone Pavček



Draga Irena,

vest o tvoji nezgodi je odjeknila kot srce parajoči krik in naše uredništvo zavila v globoko črnino. Težko je verjeti, da te nikoli več ne bomo videli prestopiti praga naših prostorov. Vsakič si vstopila na enak način – tiho, v naglici, pogosto kakšno minuto prepozno, rahlo zadihano, a zmeraj z nasmehom in iskrico v očeh. Na isti način si se prikradla tudi v naša srca – kot da si tam že od nekdaj.

Naše poti so se zares prekrizale, ko si bila kot edina izbrana na jesenskem razpisu za nove urednike Medicinskih razgledov v letu 2015. Do takrat smo se gotovo že nešteto krat sprehodili drug mimo drugega na poti v predavalnice, na vaje in seminarje. Vsak zatopljen v svoje misli smo hiteli drug mimo drugega mesece, celo leta, dokler se v uredništvu Medicinskih razgledov nismo prvič usedli za eno mizo, dvignili pogled in načeli prvi pogovor. Vsi zagnani, neučakani in pripravljeni, da pustimo svoj pečat na spoštovanja vredni tradiciji Medicinskih razgledov. Vsi smo čutili veliko odgovornost, vsi smo bili na isti misiji – pustiti za seboj društvo in revijo, ki bosta zaradi nas malce boljša. Našli smo vsak svojo nišo, v kateri smo doprinesli, kolikor smo mogli in znali. Poleg tega, da si dolgo časa zgledno opravljala delo vodje prodaje, je bila tvoja niša nedvomno rubrika »5 minut za boljši slog«. Vsak sestanek smo se na isti točki dnevnega reda vsi ozrli okrog sebe in te poiskali s pogledom. Brez skrbi, ti si že imela pripravljen seznam. Bila si tudi nepogrešljiv član prenekatere delovne skupine za izdelavo zbornikov iz vseh mogočih medicinskih področij ter gonilna sila nešteti projektov in dogodkov. V našem uredništvu si pustila globok pečat in pridobila spoštovanje ter naklonjenost vseh, ki smo imeli čast s teboj sodelovati.

Vsi tvoji dosežki med študijem, pri raziskovalnem delu, v uredništvu in pri zborovskem petju so občudovanja vredni; vendarle pa niso glavni razlog, da se te bomo vse življenje spominjali solznih oči in z nasmehom na licu. Spominjali se te bomo, ker nisi bila le naša kolegica urednica, ampak predvsem naša iskrena prijateljica. Spominjali se bomo, da si imela za vsako pripombo iz naših ust šaljivo repliko, ki nas je nasmejala do solz. Spominjali



se bomo, kako sta s Samom prikolesarila na vsak motivacijski vikend z nasmehom na obrazu. Da si živila v glasbi – pela in plesala si na melodije, ki jih je igralo življenje. Spominjali se bomo tvoje neusahljive energije in iskrivosti, prikupne hudomušnosti ter nalezljivega smeha. Mehkobe, s katero si govorila o svoji družini, fantu in prijateljih. Pogovorov po sestankih, ki so se zavlekli dolgo v noč. Tvojih strahov in negotovosti glede prihodnosti v medicini, ki jih delimo vsi nadobudni študenti medicine in mladi diplomanti. To, kar smo povedali tebi že davno tega, napišimo sedaj še črno na belem. Irena, dober zdravnik je najprej dober človek. Premore sočutje, človečnost, strast do poklica, obenem pa je profesionalen, radoveden in pripravljen na vseživljenjsko nadgrajevanje znanja. Ti si že bila najboljši človek in bi bila, če bi le dobila to priložnost, tudi izjemna zdravnica.

Draga prijateljica, tvoja pesem bo igrala naprej, tvoj spomin bo za vselej zasidran v naših srcih in tvoj »Živjo!« bo večno odmeval v naših prostorih!

V imenu vseh urednikov Medicinskih razgledov, z ljubeznijo in spoštovanjem,

Tjaša Gortnar, dr. med., glavna urednica Medicinskih razgledov (2017–2019) in
Rok Kučan, dr. med., glavni urednik Medicinskih razgledov (2015–2017)

Zdravljenje z alirokumabom zmanjša pojavnost ishemičnih srčno-žilnih dogodkov pri bolnikih, ki po akutnem koronarnem sindromu prejemajo statin v intenzivnem odmerku

The New England Journal of Medicine, november 2018

Zdravljenje z alirokumabom, monoklonskim zaviralcem encima proprotein konvertaza subtilisin kexin 9 (PCSK9), je pri bolnikih, ki so po akutnem koronarnem sindromu prejeli močnejši statin, zmanjšalo pogostost ponovnih ishemičnih srčno-žilnih dogodkov v primerjavi z zdravljenjem s placebo.

V srednjem času sledenja 2,8 leta je bila skupna pogostost smrti zaradi koronarne bolezni srca, neusodnega srčnega infarkta, usodne ali neusodne možganske kapi in sprejema v bolnišnico zaradi nestabilne angine pectoris 9,5 % v skupini, ki je prejela alirokumab, in 11,1 % v skupini, ki je prejela placebo. Razlika je bila ob oceni razmerja tveganj 0,85 in njegovem 95 % intervalu zaupanja 0,78–0,93 statistično značilno v prid zdravljenju z alirokumabom. Zdravljenje z alirokumabom je bilo povezano tudi

s statistično značilno manjšo umrljivostjo (3,5 % proti 4,1 %). Analize so pokazale, da je bilo zdravljenje z alirokumabom koristnejše pri bolnikih z izhodiščno ravno serumskega LDL-holesterola vsaj 2,59 mmol/l.

Raziskava je zajela skoraj 19.000 bolnikov, ki so 1–12 mesecev prej utrpeli akutni koronarni sindrom in so prejeli statin v visoko intenzivnem ali največjem možnem odmerku, ob tem pa so imeli koncentracijo serumskega LDL-holesterola 1,8 mmol/l ali več. Naključnostno so bili razporejeni v skupini, ki sta dvojno zaslepljeno prejeli alirokumab ali placebo v podkožnih injekcijah vsaka dva tedna. Zdravljenje z alirokumabom so začeli z odmerkom 75 mg in ga zaslepljeno prilagajali s ciljem doseči raven serumskega LDL-holesterola 0,6–1,3 mmol/l.

Travma zaradi bolnišničnega zdravljenja povezana z večjim tveganjem za ponoven sprejem v bolnišnico

JAMA Internal Medicine, december 2018

Bolnišnično zdravljenje je lahko za nekatere bolnike velika obremenitev. Ugotovitve raziskave, objavljene na spletni strani revije JAMA Internal Medicine, da je lahko travma bolnišničnega zdravljenja zaradi nekirurške bolezni tako velika, da se zaradi nje poveča tveganje za ponoven sprejem v bolnišnico ali obravnavo na urgentnem oddelku v 30 dneh po odpustu iz bolnišnice.

Raziskovalci iz več središč v Kanadi so v obdobju september 2016–september 2017 prospektivno spremljali bolnike, ki so bili za vsaj 48 ur sprejeti na oddelk za interno medicino v dveh univerzitetnih bolnišnicah v Torontu. Pred odpustom iz bolnišnice so vsi odgovorili na standardiziran vprašalnik, s katerim so ocenili spanje, pokretnost,

ješčnost in razpoloženje med bivanjem v bolnišnici.

V končno analizo so vključili podatke 207 bolnikov, 82 žensk in 125 moških, starih povprečno $60,3 \pm 16,8$ leta. Motnje spanja so zabeležili pri 36,2 %, motnje pokretnosti pri 78,3 %, motnje hranjenja oziroma neješčnost pri 55,1 % in motnje razpoloženja pri 23,2 % bolnikov. V 30 dneh je bilo v bolnišnico oziroma na urgentni oddelek ponovno sprejetih 37,7 % bolnikov z veliko stopnjo travme (motnje v vsaj treh kategorijah) in 21,9 % bolnikov z nizko stopnjo travme zaradi bolnišničnega zdravljenja (motnje v največ dveh kategorijah). Razlika je ohranila statistični pomen tudi, ko so izločili vplive razlik v izhodiščnih značilnostih.

Obsevanje ne izboljša preživetja bolnikov z razširjenim rakom prostate, morda koristno ob majhnem bremenu zasevkov

Lancet, december 2018

Retrospektivne analize so pri moških z razširjenim rakom prostate zaznale povezavo med obsevanjem primarnega tumorja in boljšim preživetjem. Edina randomizirana raziskava tega pristopa doslej koristi ni potrdila, vendar tudi ne povsem ovrgla. V de-

cembrski številki revije Lancet pa so bili objavljeni rezultati raziskave STAMPEDE, ki je potekala v 117 bolnišnicah v Švici in Združenim kraljestvom z namenom potrditi hipotezo, da bo obsevanje prostate izboljšalo preživetje bolnikov z razširjenim rakom

prostate in da bo preživetje boljše pri bolnikih z manjšim bremenom zasevkov.

Skupaj je bilo v raziskavo v letih 2013–2016 zajetih 2.061 bolnikov z na novo odkritim razširjenim rakom prostate. Bolnike so ob upoštevanju demografskih in nekaterih kliničnih dejavnikov (zasevki v bezgavkah, telesna zmogljivost, načrtovano zdravljenje z odtegnitvijo androgenov oziroma docetakselom itd.) naključnostno razporedili v skupino, ki je bila obravnavana po standardnem protokolu, in v skupino, ki je bila zdravljena z dnevnim (55 Gy v 20 frakcijah v štirih tednih) ali tedenskim obsevanjem prostate (36 Gy v šestih frakcijah v šestih tednih). Srednja starost bolnikov je bila 68 let, srednja vrednost koncentracije

PSA pa 97 µg/l. Breme zasevkov je bilo majhno pri 40 %, veliko pa pri 54 % bolnikov.

Srednji čas sledenja je bil 37 mesecev. V kontrolni skupini je umrlo 391 bolnikov (srednje preživetje 46 mesecev), v skupini z obsevanjem pa 370 bolnikov (srednje preživetje 48 mesecev). Razlika med skupinama ni bila statistično značilna. Preživetje po obsevanju je bilo v podskupini bolnikov z majhnim bremenom zasevkov boljše, zato so raziskovalci mnenja, da bi bilo ustrezno z obsevanjem zdraviti vse bolnike z rakom prostate in majhnim bremenom zasevkov. Ta ugotovitev morda nakazuje korist obsevanja primarnega tumorja tudi pri bolnikih z majhnimi zasevki z drugimi vrstami raka.

Podhladitev ne izboljša izida po hudi nezgodni poškodbi možganov

The Journal of the American Medical Association, december 2018

Podhladitev je ukrep, ki bi utegnil po mnenju nekaterih zmanjšati okvaro živčevja pri hudi nezgodni poškodbi možganov in izboljšati napoved teh poškodovancev. Izsledki randomizirane raziskave POLAR-RCT (Prophylactic Hypothermia Trial to Lessen Traumatic Brain Injury–Randomized Clinical Trial) teh domnev niso potrdili.

V obdobju december 2010–november 2017 so v šestih državah v raziskavo vključili 511 poškodovancev s hudo nezgodno poškodbo možganov zaradi tope poškodbe glave z oceno po Glasgowski lestvici kome največ 9 točk. Poškodovanci so bili stari pov-

prečno 34±13,4 leta, približno 80 % je bilo moških. Naključnostno so bili razporejeni v skupino, v kateri so bolnike čim prej (v polovici primerov manj kot v dveh urah) podhladili do 33–35 °C za vsaj 72 ur in do največ sedem dni, in v skupino, v kateri so vzdrževali telesno temperaturo na 37 °C, če je bilo potrebno tudi s hlajenjem z obkladki. Po sedmih dneh so podhlajene bolnike postopoma ogreli. Vsi drugi terapevtski ukrepi so bili odločitev posameznega zdravnika. Izide so vrednotili zaslepljeno.

Šest mesecev po poškodbi je bil delež bolnikov, ki so preživel z ugodnim izidom

(ocena po Glasgowski lestvici izida 5–8), v skupini s podhladitvijo 48,8 %, v skupini brez podhladitve pa 49,1 %. Med skupinama tudi ni bilo razlik v porazdelitvi ocen izi-

da po Glasgowski lestvici in razlik v pogostosti pljučnice (55,0 % proti 51,3 %) ali pogostosti poslabšanja znotrajlobanjske krvavitve (18,1 % proti 15,4 %).

Zdravljenje s pantoprazolom med zdravljenjem v intenzivni enoti ne zmanjša umrljivosti in tveganja za krvavitev v prebavila

The New England Journal of Medicine, december 2018

Bolniki med zdravljenjem v intenzivni enoti pogosto prejemajo zdravila za preprečevanje nastanka razjed v prebavilih. Evropska randomizirana kontrolirana raziskava z dvojno zaslepitvijo, je pokazala, da preprečevalno zdravljenje z intravenskim odmerkom zaviralca protonske črpalke pantoprazola, ne zmanjša umrljivosti v 90 dneh in pogostosti drugih pomembnih dogodkov.

Vključenih je bilo 3.298 bolnikov, ki so bili zaradi akutnega bolezenskega stanja načrtovano sprejeti v intenzivno enoto in so bili zaradi svojega stanja (šok, nadomestno ledvično zdravljenje, motnje koagulacije, zdravljenje s protikoagulacijskimi zdravili) bolj ogroženi zaradi pojava krvavitve v prebavila. Naključno izbrana polovica bolnikov je bila razporejena v skupino, ki je dnevno prejela intravenski odmerek

40 mg pantoprazola, druga pa v skupino, ki je namesto pantoprazola prejela placebo. Zdravljenje je bilo dvojno zaslepljeno, njegov učinek pa so primerno vrednotili z umrljivostjo v 90 dneh po naključnostni razporeditvi.

V opazovanem obdobju je umrlo 31,1 % bolnikov, ki so prejeli pantoprazol, in 30,4 % bolnikov, ki so prejeli placebo (relativno tveganje 1,02; 95 % interval zaupanja 0,91–1,13). Med zdravljenjem v intenzivni enoti je vsaj en klinično pomemben dogodek (pomembna krvavitev v prebavila, pljučnica, okužba s *Clostridium difficile* ali ishemija srčne mišice) utrpelo 21,9 % bolnikov iz skupine s pantoprazolom, in 22,6 % bolnikov iz placebo skupine. Pogostnost pomembne krvavitve v prebavila je bila 2,5 % oz. 4,2 %.

Bolniki v ZDA zaradi visoke cene pogosto varčujejo z odmerjanjem insulina

JAMA Internal Medicine, december 2018

Zdravljenje z insulinom je za bolnike s sladkorno boleznijo življenjsko pomembno, zato je Svetovna zdravstvena organizacija uvrstila insulin med nujno potrebna zdravila, ki morajo biti vedno dostopna po posamezniku in skupnosti dostopni ceni. V ZDA se je cena insulina v zadnjem desetletju kljub temu potrojila, ob tem pa se je dvakrat povečala tudi cena doplačila za insulin, predpisan na recept. Skupina raziskovalcev z univerze Yale je pokazala, da zaradi tega mnogi ameriški bolniki varčujejo z insulinom in si ga odmerjajo neredno.

Skupina je v obdobju junij 2017–avgust 2017 opravila anketno raziskavo pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa 1 ali 2, ambulantno obravnavanih v univerzitetnem središču, ki so jim v zadnjih šestih mesecih predpisali insulin. Vprašalnik je izpolnilo 199 (56,2 %) od skupaj 354 bolnikov, ki so jih povabili k sodelovanju. Deleža moških in žensk sta bila enaka, 60 % bolnikov je bilo belopolnih, 41,7 % jih je imelo sladkorno bolezen tipa 1.

O varčevanju z insulinom zaradi cene je poročalo 51 bolnikov (25,5 %), od katerih se jih je 31 prej že pogovarjalo s svojim zdravnikom o ceni zdravljenja, 15 pa jih je zaradi cene zamenjalo vrsto insulina. Pri bolnikih, ki so varčevali z insulinom zaradi cene, je bila verjetnost za slabše urejeno presnovo glukoze glede na raven HbA1c skoraj trikrat večja kot pri bolnikih, pri katerih cena zdravljenja ni bila zadržek.

Insulin je zdravilo, ki tem bolnikom rešuje življenje, zato ne morejo nastopati kot cenovno občutljivi kupci, so raziskovalci zapisali v zaključku poročila. Regulatorji in zdravstvena skupnost bi morali ukrepati in zagotoviti, da je insulin dostopen bolnikom, ki ga potrebujejo. Najmanj, kar bi lahko naredil zdravnik v teh okoliščinah, je po mnenju raziskovalcev pogovor o stroškovnem bremenu zdravljenja z insulinom z vsemi bolniki in pomoč pri premagovanju tega bremena tistim, ki jo potrebujejo.

Računalniško podprta diagnostika kožnega raka uporabna predvsem kot podpora specialistični obravnavi

Cochrane Database of Systematic Reviews, december 2018

Sistemi za računalniško podprto diagnostiko (angl. *computer-assisted diagnosis*, CAD) kožnega raka, ki temeljijo na analizi slikovnih in drugih podatkov o spremembah na koži z umetno inteligenco, bi utegnili pomagati zdravnikom pri prepoznavanju nevarnih znamenj in drugih sprememb. Raziskovalci iz več univerzitetnih središč v Združenem kraljestvu so za Cochrane Collaboration opravili sistematičen pregled literature s ciljem ovrednotiti diagnostično natančnost sistemov CAD (samostojno ali v primerjavi z dermatoskopijo, ki jo opravi zdravnik specialist) glede na histološki izvid ali izid nadaljnje klinične obravnave. Podatke o raziskavah so zbrali s poizvedbami po številnih elektronskih bibliografskih in drugih virih za obdobje do avgusta 2016. Opravili so ločeni analizi za sisteme, ki analizirajo računalniško zajeto dermatoskopsko sliko (Derm-CAD), in sisteme, ki analizirajo spektroskopske podatke o kožni spremembi (MSI-CAD).

V končno analizo so zajeli podatke iz 42 raziskav, ki so preučevale sisteme CAD za diagnostiko melanoma, za ovrednotenje natančnosti pri odkrivanju bazalnoceličnega karcinoma (tri raziskave) oziroma ploščato-celičnega karcinoma (ena raziskava) pa je bilo premalo podatkov. Velika večina raziskav je bila opravljena v Evropi (69 %) in Severni Ameriki (19 %), v skoraj vse so bili vključeni pretežno preiskovanci, ki so bili že obravnavani pri specialistu dermatologu in je bila pri njih načrtovana kirurška odstranitev sumljivega znamenja oziroma spremembe.

Sisteme Derm-CAD so preučevali v 24 raziskavah s skupaj 9.602 ovrednotenima

spremembama, med katerimi je bilo 1.220 primerov melanoma, sisteme MSI-CAD pa v 18 raziskavah s skupaj 6.336 ovrednotenimi spremembami, med katerimi je bilo 934 primerov melanoma. Sistemi so se med seboj močno razlikovali glede strojne kot programske opreme, zasnov in metod učenja algoritmov ter morfoloških lastnosti sprememb, ki so bile vključene v računalniško analizo. Poročanje o rezultatih je bilo nepopolno, tveganje pristranskosti pa nejasno ali veliko na vseh ocenjevanih področjih.

Analiza združenih podatkov iz 22 raziskav je pokazala, da je bila pri sistemih Derm-CAD občutljivost za odkrivanje melanoma 90,1 % (95 % interval zaupanja 84,0–94,0 %), specifičnost pa 74,3 % (63,6–82,7 %). Glede na te podatke bi pri 1.000 analiziranih spremembah in pričakovani pogostnosti melanoma 20 % sistem spregledal 20 primerov melanoma ob 206 lažno pozitivnih izvidih. Analiza združenih podatkov iz osmih raziskav pa je razkrila, da sta bili občutljivost in specifičnost sistemov MSI-CAD 92,9 % (83,7–97,1 %) in 43,6 % (24,8–64,5 %), kar bi pri analizi 1.000 sprememb pomenilo 14 spregledanih primerov melanoma ob 451 lažno pozitivnih izvidih. Začetne ugotovitve kažejo, da so sistemi CAD za odkrivanje melanoma in atipičnih melanocitnih nevusov vsaj tako občutljivi kot analiza dermatoskopskih slik, ki jo opravi zdravnik.

V izbrani skupini bolnikov, imajo vsi sistemi dobro občutljivost in bi utegnili biti uporabni kot pomoč zdravniku specialistu pri zmanjšanju tveganja za spregled mela-

noma. Obstoječi dokazi niso dovolj kakovostni, da bi omogočili oceno, ali uporaba sistemov CAD vpliva tudi na klinično od-

ločanje v praksi. Dokazov je premalo tudi za primerjalno vrednotenje posameznih sistemov.

Zdravljenje s kisikom pri bolnikih s sumom na akutni srčni infarkt nima dolgoročne koristi

Circulation, december 2018

Zdravljenje s kisikom je bilo pri bolnikih s sumom na akutni srčni infarkt dobro stoletje izkustveno. Do objave rezultatov raziskave DETOX-AMI (Determination of the Role of Oxygen in Suspected Acute Myocardial Infarction) na kongresu Evropskega kardiološkega združenja v Barceloni leta 2017, ki so pokazali, da pri bolnikih s sumom na akutni srčni infarkt in ustreznim nasičenjem hemoglobina s kisikom rutinsko zdravljenje s kisikom ne vpliva na umrljivost v prvem letu po dogodku. Na kongresu v Barceloni pa še ni bilo na voljo rezultatov za druge ključne opazovane dogodke. Te podatke in rezultate dolgotrajnega sledenja so švedski raziskovalci objavili v decembrski številki revije *Circulation*.

Skupna pogostost smrti zaradi katerega koli vzroka in sprejema v bolnišnico zaradi srčnega popuščanja v prvem letu sledenja je bila 8,0 % v skupini, ki je prejela kisik, in 7,9 % v skupini, ki ni prejela kisika. Razlika ob oceni razmerja tveganj 0,99 in njenem 95 % intervalu zaupanja 0,84–1,18

ni bila statistično značilna. V srednjem času sledenja 2,1 leta (1,0–3,7 leta) je bila skupna pojavnost teh dveh dogodkov prav tako statistično enaka (11,2 % oz. 10,8 %). V prvem letu sledenja je bila umrljivost zaradi srčno-žilnega vzroka 3,7 % v skupini, ki je prejela kisik, in 3,5 % v skupini, ki ni prejela kisika (razmerje tveganj 1,03; 95 % interval zaupanja 0,80–1,32). V srednjem času sledenja 2,1 leta pa sta bila ta deleža 5,2 % oz. 4,8 %. Vsi rezultati so bili podobni v vseh v protokolu raziskave opredeljenih podskupinah.

Raziskava je sicer zajela več kot 6.600 bolnikov z značilnimi simptomi akutnega srčnega infarkta, ki so se pojavili največ šest ur pred začetkom obravnave. Vsi bolniki so imeli ob vključitvi nasičenje hemoglobina s kisikom vsaj 90 %. Naključnostno so jih razporedili v skupino, ki je po odprti obrazni maski 6–12 ur prejela kisik s pretočkom 6 l/min, in v kontrolno skupino, ki je po obrazni maski prejela sobni zrak.

Radikalna prostatektomija podaljša preživetje pri bolnikih z zamejenim, klinično odkritim rakom prostate

The New England Journal of Medicine, december 2018

Mnogi bolniki, pri katerih klinično odkrijejo zamejenega raka prostate, bi imeli sicer dolgo pričakovano življenjsko dobo. Radikalna prostatektomija zmanjša umrljivost, vendarle pa je podatkov iz randomiziranih raziskav z zelo dolгим sledenjem razmeroma malo. V raziskavo SPCG-4 (Scandinavian Prostate Cancer Group Study Number 4) so bolnike začeli vključevati leta 1989. Raziskovalci iz več središč na Švedskem in nekaterih drugih držav so predstavili rezultate po 29 letih od začetka raziskave, ko je umrlo 80 % v raziskavo vključenih bolnikov.

V raziskavo je bilo v letih 1989–1999 v 14 središčih na Švedskem, Finskem in na Islandiji vključenih 695 moških z zamejenim rakom prostate, ki so bili mlajši od 75 let (povprečno 65 let) in so imeli pričakovano življenjsko dobo vsaj 10 let. Po naključnem izboru so jih razporedili bodisi za radikalno prostatektomijo bodisi za opazovanje. Do konca leta 2017 so poseg opravili pri 85 % bolnikov, ki so bili razporeje-

ni v skupino za radikalno prostatektomijo, zdravljenje z namenom ozdravitve so v tem obdobju opravili tudi pri 15 % bolnikov, ki so bili sprva razporejeni za opazovanje. Srednji čas sledenja je bil 23,6 leta.

Do konca leta 2017 je umrlo 261 od 347 bolnikov, ki so bili razporejeni za radikalno prostatektomijo, in 292 od 348 bolnikov, ki so bili razporejeni za opazovanje. Zaradi raka prostate je umrlo 71 oziroma 110 bolnikov. Absolutna razlika v umrljivosti zaradi raka prostate je bila 11,7 odstotnih točk v prid skupine z radikalno prostatektomijo (relativno tveganje 0,55; 95 % razpon zaupanja 0,41–0,74). V 23 letih so bolniki iz skupine z radikalno prostatektomijo pridobili povprečno 2,9 leta življenja. Analize histoloških in drugih izvidov so pokazale, da je bilo širjenje raka skozi ovojnico prostate povezano s petkrat večjim, ocena po Gleasonu 7 ali več pa z desetkrat večjim tveganjem za smrt.

Jemanje vitaminov in mineralov najverjetneje ne ščiti pred upadom kognitivnih dejavnosti in demenco

Cochrane Database of Systematic Reviews, december 2018

Pripravki vitaminov in mineralov naj bi med drugim, tudi ohranjali raven kognitivnih dejavnosti in celo preprečevali pojav demence v starosti. Izsledki sistematičnega pregleda literature z metaanalizo izbranih randomiziranih raziskav, ki ga je opravila skupina Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group, ne potrjujejo teh domnev. Skupina ni odkrila dokazov, da bi imelo jemanje kakršnih koli pripravkov vitaminov in/ali mineralov v srednjem življenjskem obdobju pomembnejši učinek na upad kognitivnih dejavnosti ali pojavnost demence, opozorila pa je, da dokazi niso dovoljakovostni, da bi omogočali dokončne zaključke.

Skupina je s poizvedbami po elektronskih bibliografskih virih in lastnih registrih za obdobje do januarja 2018 iskala randomizirane kontrolirane raziskave, ki so preučevale vpliv vsaj trimesečnega jemanja pripravka vitaminov in/ali mineralov na kognitivne dejavnosti pri preiskovancih, starih vsaj 40 let. V končno analizo so bili zajeti rezultati 28 raziskav s skupaj več kot 83.000 preiskovanci. Večinoma je šlo za raziskave, v katerih ocena vpliva na kognitivne dejavnosti ni bila primarni cilj. V mnogih raziskavah niso opravili testiranja kognitivnih dejavnosti ob vstopu v raziskavo in le kratko oceno ob kontrolnih pregledih. Zelo malo raziskav je ocenjevalo pojavnost demence, le deset raziskav je imelo povprečni čas sledenja več kot pet let, povprečna sta-

rost preiskovancev je bila manj kot 60 let le v dveh raziskavah. Skupina je ocenila, da je zanesljivost dokazov za skoraj vse rezultate zmerna ali slaba.

Štirinajst raziskav s skupaj 27.882 preiskovanci je preučevalo učinek jemanja folne kisline, vitamina B12, vitamina B6 ali kombiniranih pripravkov v primerjavi s placebom. Analiza rezultatov je pokazala, da jemanje teh vitaminov pri preiskovancih brez upada kognitivnih dejavnosti v sedmem ali osmem desetletju življenja najverjetneje ni imelo nobenega vpliva na kognitivne dejavnosti v obdobju do pet let. Podatki o neželenih učinkih in o pojavnosti upada kognitivnih dejavnosti oziroma demence so bili pičli.

Osem raziskav s skupaj 47.840 preiskovanci je preučevalo učinek beta karotena, vitamina C ali vitamina E. Rezultati so bili različni. Ena raziskava je z razmeroma majhno zanesljivostjo pokazala korist jemanja pripravka beta-karotena za stopnjo kognitivnih dejavnosti po povprečno 18 letih, ena raziskava pa je podobno pokazala za jemanje pripravka vitamina C po 5–10 letih. V dveh raziskavah, v katerih so poročali o pojavnosti demence, ni bilo dokazov o koristih pripravka vitamina E ali kombinacije protioksidacijskih vitaminov z ali brez selena. Analize za pripravke mineralov, kot so selen, cink in baker, prav tako niso razkrile koristnih učinkov.

Zdravljenje z večjim odmerkom antipsihotičnega zdravila pri otrocih in mladostnikih povezano s povečanim tveganjem za nepričakovano smrt

JAMA Psychiatry, december 2018

Otroci in mladostniki, ki se zdravijo z antipsihotičnimi zdravili, utrpijo tudi življenjske ogrožajoče škodljive učinke teh zdravil, podatkov, ali so ta zdravila pri bolnikih brez psihotičnih bolezni povezana z večjim tveganjem za smrt, pa je malo. Raziskovalci s fakultete za medicine univerze Vanderbilt Nashvillu (ZDA) so zato preučili podatke sistema zdravstvenega zavarovanja Medicaid v ameriški zvezni državi Tennessee zbrane v letih 1999–2014 za bolnike, stare 5–24 let, ki niso imeli resnih telesnih bolezni, shizofrenije in sorodnih psihoz ter nekaterih drugih duševnih bolezni.

Analiza je zajela 247.858 otrok in mladostnikov. V njej so primerjali tri skupine: skupino 28.377 bolnikov (povprečna starost $11,7 \pm 4,4$ leta), zdravljenih z odmerkom, ki je ustrezal do 50 mg klorpromazina dnevno, skupino 30.120 bolnikov (povprečna starost $14,5 \pm 4,8$ leta), zdravljenih z odmerkom, ki je ustrezal več kot 50 mg klorpromazina dnevno, in kontrolno skupino 189.361 bolnikov (povprečna starost $12,0 \pm 5,1$ leta), ki ni prejela antipsihotičnih zdravil. Antipsihotična zdravila so vsem bolnikom, ki so jih prejeli, predpisali prvič. Umrljivost v skupini, ki je prejela večji odmerek protipsihotičnega zdravila, je bila 146,2 primera na 100.000 oseb-let, kar je bilo sta-

tistično značilno več kot 54,5 primera na 100.000 oseb-let v kontrolni skupini. Razlika je največ prispevala znatno večja pogostost nepričakovane smrti v skupini, ki je prejela večji odmerek (76,8 primera proti 17,9 primera na 100.000 oseb-let).

Analiza, v kateri so izločili medsebojne vplive številnih dejavnikov, je potrdila, da je bilo zdravljenje z večjim odmerkom antipsihotičnega zdravila povezano z večjo pogostostjo nepričakovane smrti (razmerje tveganj 3,51; 95 % interval zaupanja 1,54–7,96) in večjo umrljivostjo zaradi vseh vzrokov (1,80; 1,06–3,07), pogostnost smrti zaradi nenamerne poškodbe ali samomora pa je bila podobna kot v kontrolni skupini (1,03; 0,53–2,01). Zdravljenje z manjšim odmerkom antipsihotičnega zdravila ni bilo povezano z večjo umrljivostjo zaradi nobenega od preučevanih vzrokov.

Rezultati po mnenju raziskovalcev nakazujejo, da je povečano tveganje za nepričakovano smrt povezano z zdravljenjem z antipsihotičnim zdravilom, in še utrjujejo priporočila o previdnosti pri predpisovanju teh zdravil otrokom in mladostnikom in ustreznem nadzoru poteka zdravljenja. Potrebno bi bilo tudi opraviti raziskave varnosti teh zdravil v tej populaciji.

Migracija staršev ima zdravstvene posledice za otroke, ki ostanejo v izvornem okolju

Lancet, december 2018

Migranti, še posebej tisti z iz revnejših dežel z nižjo stopnjo izobrazbe, pogosto zapustijo otroke in mladostnike v državi izbora v varstvu sorodnikov ali skrbnikov. Migracija staršev ima škodljive učinke na njihovo zdravje, je pokazala prva večja raziskava, ki se je osredotočila na ta zdravstveni vidik migracij.

Raziskovalci iz več univerzitetnih središč v Združenem kraljestvu so sistematično preiskali elektronske bibliografske vire in registre raziskav za obdobje do aprila 2017, in zbrali podatke o opazovalnih raziskavah, ki so preučevale vpliv migracije staršev na prehrano, duševno zdravje ter pogostost nenamernih poškodb, okužb, uživanja drog, nezaščitenih spolnih odnosov, zgodnje nosečnosti in zlorabe pri otrocih (starost do 19 let), ki so ostali v državi izvora.

V končno analizo so zajeli 111 raziskav, v katere je bilo vključeno skupaj 264.967 otrok, od tega 106.167 otrok staršev migrantov. Večina raziskav (91) je bila opravljena na Kitajskem in je preučevala notranje mi-

gracije zaradi dela. Izračuni so pokazali, da so otroci staršev migrantov izpostavljeni večjemu tveganju za pojav depresije, tesnobe, samomorilnih misli, uživanja drog, podhranjenosti in motenj v rasti in razvoju zaradi podhranjenosti, okužb in pomanjkanja psihosocialnih spodbud (angl. *stunting*). Nobena raziskava ni spremljala pogostosti okužb (razen driske), samopoškodovanja, nezaščitenih spolnih odnosov in zgodnje nosečnosti. Kakovost raziskav je bila spremenljiva, možnost pristranskosti na vsaj petih področjih so ugotovili v 43 % poročil.

Raziskovalci so v zaključku poudarili, da za zdravstvene potrebe otrok, ki po migraciji staršev ostanejo v izvornem okolju ni poskrbljeno v zadostni meri, predvsem na področju duševnega zdravja in prehranjevanosti. Razsežnosti tega problema zunaj Kitajske niso zadovoljivo opredeljene. Ukrepi, ki bi preprečili dolgotrajne negativne posledice migracije staršev, so nujno potrebni.

Seznam diplomantov, ki so diplomirali na Medicinski fakulteti v Ljubljani od 26. aprila do 18. avgusta 2019

Diplomanti medicine

Petrič Lara	30. 1. 2019	Zidarič Mateja	21. 6. 2019
Metul Danaja	26. 4. 2019	Zorko Klara	21. 6. 2019
Žižek Anja	26. 4. 2019	Lang Melanija	24. 6. 2019
Kenda Nina	29. 4. 2019	Romih Jan	24. 6. 2019
Zwitter Luka	29. 4. 2019	Roškar Samo	24. 6. 2019
Skušek Petra Marija	6. 5. 2019	Šket Nina	26. 6. 2019
Šturm Anže	10. 5. 2019	Voljavec Anja	26. 6. 2019
Šuleski Leon	13. 5. 2019	Kebrič Anej	27. 6. 2019
Zelič Ajda	22. 5. 2019	Vasle Špela	27. 6. 2019
Bohinc Anita	29. 5. 2019	Vesenjak Aljaž	1. 7. 2019
Kostadinova Viktorija	14. 6. 2019	Vrščaj Eva	1. 7. 2019
Lovšin Klemen	14. 6. 2019	Salobir Neža	2. 7. 2019
Zemljak Katarina	14. 6. 2019	Visočnik Nina	2. 7. 2019
Zhivkovikj Nikola	14. 6. 2019	Pečar Maks	4. 7. 2019
Jezernik Lena	17. 6. 2019	Pirnat Domen	4. 7. 2019
Batkoska Marija	18. 6. 2019	Rihar Eva	4. 7. 2019
Žagar Jan	18. 6. 2019	Domej Lidija	5. 7. 2019
Nemanič Jože	19. 6. 2019	Verdenik Miha	5. 7. 2019
Podbregar Primož	19. 6. 2019	Brejc Jan	8. 7. 2019
Prolič - Kalinšek Tine	19. 6. 2019	Perko Ana	8. 7. 2019
Šparaš Maja	19. 6. 2019	Gortnar Tjaša	9. 7. 2019
Cerović Kosta	20. 6. 2019	Jerebic Luka	9. 7. 2019
Belina Jakob	21. 6. 2019	Mrak Matic	9. 7. 2019
Cibiz Tanja	21. 6. 2019	Podboj Aleš	9. 7. 2019
Drglin Nikolina	21. 6. 2019	Ušeničnik Eva	9. 7. 2019
Drmota Eva	21. 6. 2019	Lakner Katarina	10. 7. 2019
Javornik Katarina	21. 6. 2019	Zupančič Nina	10. 7. 2019
Jereb David	21. 6. 2019	Prijić Jelena	15. 7. 2019
Končan Anja	21. 6. 2019	Uršič Jure	15. 7. 2019
Lešnik Lara Anja	21. 6. 2019	Vodnik Lana	22. 7. 2019
Smerkolj Meta	21. 6. 2019	Kolarik Žiga	23. 7. 2019
Stražar Mirjam	21. 6. 2019	Ciglar Veronika	26. 7. 2019
Trampuš Maja	21. 6. 2019	Pungerčar Alja	26. 7. 2019
Tuta Katja	21. 6. 2019	Smole Zala	30. 7. 2019
Vojković Rok	21. 6. 2019	Čižmek Mitja	5. 8. 2019

Diplomanti dentalne medicine

Krenker Veronika	26. 4. 2019	Černe Tim	8. 7. 2019
Kovšca Katja	16. 5. 2019	Grmek Eva	8. 7. 2019
Petrič Polona	16. 5. 2019	Jerič Loreta	9. 7. 2019
Žežlina Veronika	16. 5. 2019	Kroflič Žiga	9. 7. 2019
Škof Urška	20. 5. 2019	Istenič Anja	10. 7. 2019
Suljanović Ajla	23. 5. 2019	Šuler Nik	10. 7. 2019
Zemljič Urška	23. 5. 2019	Celič Alen	11. 7. 2019
Birk Luka	31. 5. 2019	Klarendić Ana	11. 7. 2019
Topolovec Leja	31. 5. 2019	Podgoršek Nejc	11. 7. 2019
Pen Maja	4. 6. 2019	Kržan Zala	12. 7. 2019
Jelenko Anže	11. 6. 2019	Mlinar Anea	12. 7. 2019
Vargazon Tjaša	24. 6. 2019	Udovičić Kristina	12. 7. 2019
Veber Živa	26. 6. 2019	Zamejc Nives	17. 7. 2019

Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru

Kupnik Aljaž	20. 5. 2019	Mihevc Matic	20. 6. 2019
Šimonka Katja	21. 5. 2019	Vindišar Anže	21. 6. 2019
Majcen Vito	22. 5. 2019	Zajc Nejc	22. 6. 2019
Grneva Margarita	23. 5. 2019	Bizjak Nika	23. 6. 2019
Ambrož Matija	24. 5. 2019	Smogavc Žan	24. 6. 2019
Žakelj Nina	25. 5. 2019	Bračič Ines	25. 6. 2019
Vurzer Blaž	26. 5. 2019	Breznik Nejc	26. 6. 2019
Medved Martina	27. 5. 2019	Antolin Črtomir	27. 6. 2019
Kodrič Petra	28. 5. 2019	Ojsteršek Laura	28. 6. 2019
Platovšek Mojca	29. 5. 2019	Javornik Bernarda	29. 6. 2019
Puhar Nika	30. 5. 2019	Dora Eva	30. 6. 2019
Zupan Ana	31. 5. 2019	Henigman Julija	1. 7. 2019
Teršek Tjaša	1. 6. 2019	Banović Tjaša	2. 7. 2019
Rajšp Patricija	2. 6. 2019	Kogelnik Andreja	3. 7. 2019
Sekej Marjan	3. 6. 2019	Štefanič Laura	4. 7. 2019
Mlakar Jan	4. 6. 2019	Farkaš Christina Rebecca	5. 7. 2019
Puzigača Pavle	5. 6. 2019	Majkič Margot	6. 7. 2019
Bolarič Tamara	6. 6. 2019	Medvešek Nina	7. 7. 2019
Sodja Alexander	7. 6. 2019	Kolč Teodor	8. 7. 2019
Burja Sandra	8. 6. 2019	But Anja	9. 7. 2019
Belec Tina	9. 6. 2019	Es Sara	10. 7. 2019
Valič Sergeja	10. 6. 2019	Jemec Nejc	11. 7. 2019
Lorber Nina	11. 6. 2019	Vigali Tomas	12. 7. 2019
Valand Donata	12. 6. 2019	Pribožič Eva	13. 7. 2019
Rojc Urh	13. 6. 2019	Tomažević Zala	14. 7. 2019
Pangeršič Rok	14. 6. 2019	Kenk Ana	15. 7. 2019
Poljanšek Anja	15. 6. 2019	Pulko Petra	16. 7. 2019
Kogovšek Ana	16. 6. 2019	Schatz Mihaela	17. 7. 2019
Hržič Urška	17. 6. 2019	Lah Petra	18. 7. 2019
Vrščaj Kaja	18. 6. 2019	Cmor Nino	19. 7. 2019
Jerot Pia	19. 6. 2019		

Navodila avtorjem

Medicinski razgledi so recenzirana strokovna revija z več kot 50-letno tradicijo, ki izhaja štirikrat letno. V reviji so objavljeni raziskovalni in pregledni članki z vseh področij biomedicinskih znanosti ter klinični primeri. Namen revije je ciljnemu bralstvu, predvsem študentom splošne in dentalne medicine ter družinskim zdravnikom v splošni praksi, v slovenskem jeziku posredovati najnovejša dognanja na področju biomedicine. S tem želimo pripomoči k napredku in uveljavljenosti slovenske biomedicinske znanosti. Cilj uredništva je objavljati kakovostne znanstvene prispevke, ne glede na vrsto in tematiko, pri čemer dajemo prednost raziskovalnim člankom in zanimivim kliničnim primerom iz prakse.

PRIPRAVA PRISPEVKA

Prispevki morajo biti pripravljeni v skladu s priporočili, ki jih objavlja International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) – Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals. Priporočila so dostopna na <http://www.icmje.org/recommendations/>

Uredništvo sprejema samo prispevke, ki še niso bili in ne bodo objavljeni drugje. Izjemoma lahko uredništvo presodi, da v uredniški postopek sprejme že objavljen oz. podoben prispevek, za katerega je koristno, da doseže najširši krog bralstva (npr. klinične smernice in priporočila), pri čemer morajo avtorji to uredništvu sporočiti ob oddaji prispevka in zagotoviti pristanek odgovornega urednika revije, kjer je prispevek že bil objavljen. Vse oddane prispevke uredništvo pregleda s programsko opremo za odkrivanje plagiatov. Dele prispevka, ki so povzeti po drugi literaturi (predvsem slike in tabele), mora spremljati dovoljenje avtorja in založnika prispevka za reprodukcijo.

Jezik besedila

Zaželeno je, da so prispevki v slovenskem jeziku, pri čemer jih mora obvezno spremljati prevod izvlečka (angl. *abstract*) in ključnih besed (angl. *key words*) v angleščini.

Avtorstvo

Pogoji za avtorstvo so natančno opisani v priporočilih ICMJE, ključni pa so naslednji kriteriji:

- znatno sodelovanje pri zasnovi in oblikovanju prispevka oz. pri zbiranju, analizi in interpretaciji podatkov,
- zasnovanje osnutka prispevka oz. pregled vsebine le-tega,
- pregled in strinjanje s končno verzijo prispevka in
- strinjanje s prevzemom odgovornosti za prispevek in pripravljenost k razreševanju vseh vprašanj, povezanih z natančnostjo in integriteto prispevka.

Avtorji prispevka morajo izpolnjevati vse štiri zgoraj navedene kriterije. Samo zbiranje podatkov ne zadostuje za avtorstvo. Kakršnekoli spremembe v avtorstvu prispevka po oddaji prispevka uredništvu morajo s podpisom potrditi vsi avtorji prvotno oddanega prispevka.

Etična načela in navzkrižje interesov

Pri prispevkih, ki obravnavajo raziskave na ljudeh ali živalih, mora biti v poglavju metode navedeno ustrezno soglasje pristojne komisije oz. ustanove, da je raziskava etično sprejemljiva in v skladu z načeli Helsinške deklaracije oz. ostalimi pomembnimi dokumenti, ki obravnavajo etičnost biomedicinskih raziskav. Za klinične študije (angl. *clinical trial*) je zaželeno registracija študije pri enem od javnih registrov, odobrenih s strani ICMJE, v skladu s standardi Svetovne zdravstvene organizacije. Več informacij,

vključno z definicijo klinične študije, je dostopnih na <http://www.who.int/ictrp/en/>

Obvezno je, da avtorji kliničnih primerov (angl. *case report*) pridobijo privolitev bolnikov (oz. če to ni mogoče, bližnjih svojcev) za objavo kliničnega primera. Privolitev ni potrebna le v primeru, če lahko avtorji prispevka zanesljivo zagotovijo, da istovetnost bolnika ni ugotovljiva.

Avtorji so uredništvu dolžni posredovati informacije o vseh (finančnih, osebnih, akademskih itd.) navzkrižjih interesov (angl. *conflict of interest*), ki bi lahko vplivala na objektivnost in verodostojnost prispevka.

Struktura prispevka

Prispevek naj bo pripravljen v programskem paketu Microsoft Word® ali OpenOffice.org (datoteke s končnicama .doc ali .docx), pisava naj bo Times New Roman, velikost črk 12 pt, razmik med vrsticami 1,5 in širina robov 2,5 cm. Skupaj z naslovno stranjo in literaturo naj prispevek obsega največ 30 strani. Prispevek mora obvezno imeti naslovno stran, izvodilca in ključne besede v slovenskem in angleškem jeziku ter seznam literature. Raziskovalni članki naj bodo členjeni na naslednja poglavja: izhodišča, metode, rezultati in razprava. Pregledni članki in klinični primeri so lahko zasnovani drugače, pri čemer naj bo delitev na poglavja in podpoglavja jasno razvidna, obvezno pa morajo vsebovati uvod in zaključek.

Naslovna stran

Obsega naj naslov prispevka v slovenskem in angleškem jeziku, imena avtorjev z natančnimi akademskimi in strokovnimi naslovi, kontaktnim elektronskim naslovom ter popoln naslov ustanove, inštituta ali klinike, kjer je prispevek nastal. Naslov naj bo kratek in natančen, opisen in ne trdilen (povedi v naslovih niso dopustne). Navedeni naj bodo viri finančnih sredstev, opreme, zdravil itd., potrebnih za izvedbo raziskave, in izjava avtorjev o možnih navzkrižjih interesov.

Izvodilca in ključne besede

Druga stran naj obsega izvodilca v slovenskem in angleškem jeziku. Izvodilca naj obsegata od 150 do 250 besed. Izvodilec raziskovalnega članka naj bo strukturiran (izhodišča, metode, rezultati in zaključki), izvodilci ostalih prispevkov so nestrukturirani. V izvodilcu naj bo predstavljen osnovni namen prispevka, vsebinsko naj povzema in ne le našteva bistvene vsebine prispevka. Izvodilec ne sme vsebovati kratic in okrajšav. Avtorji naj navedejo do sedem ključnih besed, ki natančneje opredeljujejo vsebino prispevka.

Izhodišča, uvod

V izhodiščih (pri raziskovalnih člankih) oz. uvodu (pri preglednih člankih in kliničnih primerih) avtorji predstavijo temo prispevka v logičnem zaporedju, od širšega konteksta in trenutno veljavnih dejstev, do ožje opredeljenega specifičnega problema oz. novih spoznanj, ki jih želijo predstaviti v prispevku (t. i. struktura lijaka). Pri raziskovalnih člankih mora biti v izhodiščih jasno oblikovana hipoteza.

Metode

V poglavju metode avtorji opišejo protokol, s katerim so želeli razjasniti zastavljeni problem oz. potrditi hipotezo. Opis protokola mora biti dovolj natančen in temeljit, da bi bilo enako raziskavo možno ponoviti. Avtorji morajo navesti tip in proizvajalca opreme ter imena zdravilnih učinkovin, uporabljenih v raziskavi. Prav tako morajo navesti statistične metode in programsko opremo, ki je bila uporabljena za analizo podatkov. Obvezna je izjava o etični ustreznosti raziskave (več podrobnosti najdete v poglavju Etična načela in navzkrižje interesov).

Rezultati

V besedilu poglavja rezultati avtorji predstavijo glavne ugotovitve raziskave oz. odgovor na raziskovalno vprašanje, podrob-

ne podatke pa podajo v tabelah ali slikah. Avtorji se morajo izogibati podvajanju podatkov iz tabel ali slik v besedilu. P-vrednosti je treba podati najmanj na tri decimalke natančno.

Razprava, zaključek

Razprava ni namenjena ponovnemu navajanju rezultatov, temveč njihovi interpretaciji in primerjavi s sorodnimi objavami v literaturi. Treba je podati zaključek (pri preglednih člankih in kliničnih primerih naj bo to samostojno poglavje), kjer avtorji razpravljajo o uporabnosti in pomembnosti svojega prispevka ter možnih usmeritvah za prihodnje delo.

Tabele

Tabele naj bodo smiselno vstavljene v besedilo prispevka. Ločeno jih oštevilčite po vrstnem redu, na vsako tabelo se je treba sklicevati v besedilu. Nad tabelo sodi spremno besedilo, ki naj vsebuje zaporedno številko tabele in kratek naslov, pojasnjene naj bodo tudi vse kratice, okrajšave in ne-standardne enote, ki se pojavljajo v tabeli.

Slike

Slike morajo biti profesionalno izdelane ali fotografirane. Slike sprejemamo samo v digitalni obliki in samo v kvaliteti, primerni za tisk (300 DPI). Sprejemamo slike v rastrskih zapisih (datoteke s končnicami .jpeg, .tiff, .png, .gif itd.) ali v vektorskem zapisu (datoteke s končnicami .ai, .eps, .cdr itd.). Preproste sheme lahko narišete tudi s pomočjo programskega paketa Microsoft Word®. Črke, številke ali simboli na sliki morajo biti jasni, enotni in dovolj veliki, da so berljivi tudi na pomanjšani sliki. Fotografijam, na katerih se lahko ugotovi istovetnost bolnika, obvezno priložite pisno dovoljenje bolnika.

Na vsako sliko se je treba sklicevati v besedilu prispevka. Slik ne vstavljajte le v besedilo prispevka, ampak jih posredujte tudi v samostojnih datotekah, poimeno-

nih z zaporedno številko slike in imenom prvega avtorja. Pod vsako sliko morate obvezno dodati spremno besedilo, ki naj vsebuje zaporedno številko slike, naslov slike in potrebno razlago vsebine. Slika skupaj s spremnim besedilom mora biti razumljiva tudi brez branja ostalega besedila. Pojasniti morate vse okrajšave na sliki. Če imate kakršnekoli dvome glede kakovosti slik, se predhodno posvetujte z uredništvom.

Merske enote

V besedilu uporabljajte enote, ki so v skladu z mednarodnim sistemom enot (SI).

Kratice in okrajšave

V naslovih (pod)poglavij in izvlečkih naj ne bo kratic. Na mestu, kjer se kratica prvič pojavi v besedilu, naj bo le-ta polno izpisana, kratica pa naj bo napisana v oklepaju. Izjema so mednarodno veljavne oznake merskih enot in splošno uveljavljene okrajšave (3D, aids, AMP, ATP, cAMP, cGMP, CT, DNA, EKG, EUR, GMP, GTP, HIV, MRI, RNA, RTG, UZ, ZDA).

Literatura

Vsako navajanje trditev ali dognanj drugih morate podpreti z referenco. Reference v besedilu, slikah in tabelah navedite ležeče v oklepaju z arabskimi števkami na koncu citirane trditve, pred piko oz. dvopičjem (t. i. Vancouvrski sistem citiranja). Reference naj bodo v besedilu oštevilčene po vrstnem redu, tako kot se pojavljajo. Reference, ki se pojavljajo samo v tabelah ali slikah, naj bodo oštevilčene tako, kot se bodo pojavile v besedilu. Seznam citirane literature naj bo na koncu prispevka. Literaturo citirajte po navodilih, ki jih navaja ameriška National Library of Medicine v vodiču Citing Medicine (dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>), za pomoč pri citiranju imen revij priporočamo uporabo spletnega portala PubMed (dosegljivo na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). V citatu navedite vse avtorje, le v primeru, da so avtorji več kot

trije, navedite le prve tri in pripišite et al. Isto velja za navajanje urednikov knjig.

V nadaljevanju navajamo nekaj primerov pravilnega citiranja literature:

Članek v reviji

Petek Šter M, Švab I. Bolniki s sočasnimi boleznimi v družinski medicini. *Med Razgl.* 2008; 48 (2): 205–11.

Bajuk Studen K, Preželj J, Kocjan T, et al. Mehanizmi srčno-žilne ogroženosti žensk s sindromom policističnih ovarijev. *Zdrav Vestn.* 2009; 78: 129–35.

Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, et al. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol.* 2005; 62 (1): 112–6.

Članek v reviji, kjer je avtor organizacija

American Diabetes Association. Diabetes update. *Nursing.* 2003; Suppl: 19–20, 24.

Volumen s suplementom

Vesel S. Spremembe na srcu pri Kawasaki bolezni. *Med Razgl.* 2002; 41 Suppl 2: 139–43.

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1994; 102 Suppl 2: 275–82.

Številka s suplementom

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol.* 1996; 23 (1 Suppl 2): 89–97.

Posamezni deli članka (izvlečki, pisma uredništvu ipd.)

Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [izvleček]. *Kidney Int.* 1992; 42: 1285.

Jackson B, Fleming T. A drug is effective if better than a harmless control [pismo uredništvu]. *Nature.* 2005; 434 (7037): 1067.

Knjiga

Ahčan U. Prva pomoč: priročnik s praktičnimi primeri. Ljubljana: Rdeči križ Slovenije; 2007.

Jenkins PF. Making sense of the chest x-ray: a handson guide. New York: Oxford University Press; 2005.

Eyre HJ, Lange DP, Morris LB. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; c2002.

Advanced Life Support Group. Acute medical emergencies: the practical approach. London: BMJ Books; 2001.

Poglavje v knjigi

Možina M, Jamšek M, Šarc L, et al. Zastrupitve. In: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: Littera picta; 2005. p. 1143–507.

Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, ed. *The cat: diseases and clinical management*. New York: Churchill Livingstone; 1989. p. 229–332.

Kone BC. Metabolic basis of solute transport. In: Brenner BM, Rector FC, eds. *Brenner and Rector's the kidney*. 8th ed. Vol. 1. Philadelphia: Saunders Elsevier; c2008. p. 130–55.

Poročila s kongresov

Ferreira de Oliveira MJ, ed. Accessibility and quality of health services. Proceedings of the 28th Meeting of the European Working Group on Operational Research Applied to Health Services (ORAHS); 2002 Jul 28–Aug 2; Rio de Janeiro, Brazil. Frankfurt (Germany): Peter Lang; c2004.

10th International Psoriasis Symposium; 2004 Jun 10–13; Toronto, ON. Chicago: Skin Disease Education Foundation; 2004.

Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, et al. Canabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, eds. Proceedings of the 10th World Congress on Pain; 2002 Aug 17–22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003. p. 437–68.

Doktorska in magistrska dela, raziskovalne naloge

Šabovič M. Mehanizem fiziološkega in farmakološkega raztapljanja krvnih strdkov [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 1992.

Liu-Ambrose TY. Studies of fall risk and bone morphology in older women with low bone mass [doktorsko delo]. Vancouver (BC): University of British Columbia; 2004.

Weisbaum LD. Human sexuality of children and adolescents: a comprehensive training guide for social work professionals [magistrsko delo]. Long Beach (CA): California State University, Long Beach; 2005.

Pravne listine in zakoni

Zakon o zdravniški službi 1999. Uradni list RS št. 98/1999.

Internetna stran

AMA: helping doctors help patients [internet]. Chicago: American Medical Association; c1995–2007 [citirano 2007 Feb 22]. Dosegljivo na: <http://www.ama-assn.org/>

Članek na internetu

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a casecontrol study. Infect Control Hosp Epidemiol [internet]. 2006 [citirano 2007 Jan 5]; 27 (1): 347. Dosegljivo na: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>

Knjiga na internetu

Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, et al., eds. Harrison's online [internet]. 16th ed. Colum-

bus (OH): McGraw-Hill Companies; c2006 [citirano 2006 Nov 20]. Dosegljivo na: <http://www.accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=4>

Podatkovna baza na internetu

Online Archive of American Folk Medicine [internet]. Los Angeles: Regents of the University of California. 1996 [citirano 2007 Feb 1]. Dosegljivo na: <http://www.folkmed.ucla.edu/>

Članek na CD-ju, DVD-ju ipd.

Kauffman CA, Bonilla HF. Trends in antibiotic resistance with emphasis on VRE. FPR [CD-ROM]. 1998; 20 (10).

Knjiga na CD-ju, DVD-ju ipd.

Kacmarek RM. Advanced respiratory care [CD-ROM]. Verzija 3.0. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; c2000.

Računalniški program na CD-ju, DVD-ju ipd.

Meador CR, Pribor HC. DiagnosisPro: the ultimate differential diagnosis assistant [CD-ROM]. Verzija 6.0. Los Angeles: MedTech USA; 2002.

Neobjavljeni prispevek

Laking G, Lord J, Fischer A. The economics of diagnosis. Health Econ. V tisku 2006.

ODDAJA PRISPEVKA

Prispevke in slike pošljite po elektronski pošti na naslov prispevki@medrazgl.si

V elektronskem sporočilu, s katerim odgovornemu uredniku oddajate prispevek, na kratko predstavite vsebino prispevka in pomembne nove ugotovitve v njem ter navedite korespondenčnega avtorja (s polnim naslovom, telefonsko številko in elektronskim naslovom), ki bo skrbel za komunikacijo z uredništvom in ostalimi avtorji.

Oddani prispevek mora obvezno spremljati izjava o avtorstvu in avtorskih pravicah, s katero potrjujete, da izpolnjujete kriterije ICMJE za avtorstvo prispevka in da se

strinjate s prenosom avtorskih pravic na Društvo Medicinski razgledi. Izjavo morajo lastnoročno podpisati vsi avtorji in originalni izvod poslati po navadni pošti na naslov uredništva: Društvo Medicinski razgledi, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana. Dokler izjave ne prejmemo, prispevka ne bomo objavili. Izjavo najdete na naši spletni strani: http://www.medrazgl.si/arhiv/mr_izjava_o_avtorstvu.pdf

UREDNIŠKO DELO

Odgovorni urednik vsak oddani prispevek pregleda in se odloči o uvrstitvi v uredniški postopek. Prispevke, uvrščene v uredniški postopek, posreduje ostalim članom uredniškega odbora, ki poskrbijo za tehnične in slogovne popravke, ter popravljen prispevek vrnejo avtorjem v pregled. Nato vsebino prispevka oceni strokovni recenzent, ki avtorjem ni znan, prav tako strokovni recen-

zent ni seznanjen z identiteto avtorjev. Prispevek pregledata tudi lektorja za slovenski in angleški jezik. Avtor pred objavo prispevka dobi na vpogled krtačne odtise (t. i. prve korekture), vendar na tej stopnji upoštevamo samo popravke tiskarskih napak. Komentarje na krtačne odtise morate vrniti v treh dneh, sicer menimo, da nimate pripomb.

Uredništvo pri svojem delu upošteva priporočila Committee on Publication Ethics (COPE), objavljena na <http://publication-ethics.org/>

Pri prispevkih, kjer je eden od avtorjev glavni urednik, odgovorni urednik, tehnični urednik ali član uredniškega odbora Medicinskih razgledov, se držimo priporočil COPE za zagotavljanje neodvisnega in preglednega uredniškega postopka.

Navodila avtorjem prispevkov so bila nazadnje posodobljena 23. 3. 2014. Navodila so dostopna na <http://www.medrazgl.si/>

Guidelines for Authors

Medicinski razgledi is a quarterly peer-reviewed scientific journal, which has been in continuous publication for over 50 years. It publishes research and review articles from all fields of biomedical sciences as well as clinical case reports. The scope of Medicinski razgledi is to offer its target readership, specifically medical and dental students as well as family doctors, information about the latest biomedical developments in Slovenian language and thus contribute to the advancement and recognition of Slovenian biomedicine. The aim of the editorial board is to publish good scientific manuscripts, regardless of topic and form, with a special emphasis on research articles and interesting clinical case reports.

MANUSCRIPT PREPARATION

Manuscripts must conform to the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals published by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). The recommendations are available at <http://www.icmje.org/recommendations/>

Only manuscripts that have not already been submitted and will not be submitted elsewhere are accepted. It is at the editorial board's discretion to decide whether a duplicate or an overlapping publication might be justifiable due to the nature of the manuscript (e.g. clinical guidelines and recommendations, published with the intent of reaching the broadest audience possible). If such an exception is to be made, the authors have to notify the editorial board of a possible duplicate or an overlapping publication in advance and obtain the permission of the editor of the journal to which the manuscript was originally submitted. All submitted manuscripts will be analyzed with plagiarism detection soft-

ware. If a part of a submitted manuscript was taken from another publication (e.g. figures and tables), the authors must obtain copyright permission from the author of the original publication and its publisher.

Language

The preferred language of Medicinski razgledi is Slovenian. The abstract and key words should be submitted in both Slovenian and US English.

Authorship

As per ICMJE recommendations, determination of authorship is based on the following four criteria:

- substantial contributions to the conception or design of the manuscript; or the acquisition, analysis, or interpretation of data,
- drafting of the manuscript or critical revision for important intellectual content,
- final approval of the version to be published, and
- agreement to be accountable for all aspects of the manuscript in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the manuscript are appropriately investigated and resolved.

All designated authors of a manuscript should meet all aforementioned criteria for authorship. Participation in data acquisition alone is insufficient for manuscript authorship. Any changes in the authorship of the manuscript after submission have to be confirmed to the editorial board in writing by everyone listed as authors in the originally submitted manuscript.

Ethical considerations and conflicts of interest

Manuscripts based on research involving humans or animals must list under methods

the approval of an appropriate ethical review board which states that the research was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki and other important documents pertaining to the ethics of biomedical research. Clinical trials should be registered in one of ICMJE-approved public trials registries in accordance with the World Health Organization standards; more information regarding clinical trial registration is available at <http://www.who.int/ictcp/en/>

It is mandatory for the authors of case reports to obtain permission from the patient (or, if that is not possible, close relatives) before submitting the case report. Permission is not required only if the authors can guarantee that the case cannot be identified.

Authors should disclose information on any possible conflict of interest (financial, personal, academic etc.) that could influence the objectivity and validity of the manuscript.

Organization of the manuscript

Manuscripts should be edited using Microsoft Word® or OpenOffice.org software and submitted as .doc or .docx files. The font should be Times New Roman, size 12 pt, with line spacing of 1.5 and margins of 2.5 cm. The length of the manuscript should not exceed 30 pages, including the first (title) page and references. The manuscript must contain a first page, abstracts and key words in Slovenian and English as well as a list of references. Research articles should have the following structure: introduction, methods, results and discussion. Review articles and case reports can be structured differently, but have to include an introduction and conclusions.

First (title) page

The first page should carry the article title in both Slovenian and English, full names of the authors (including their academic and

professional titles), contact e-mail and address of the institution, institute or clinic to which the work should be attributed. The title should be concise, descriptive and not affirmative (no sentences). Sources of financial support, equipment, drugs etc. should be stated along with the disclosure of conflicts of interest.

Abstract and key words

The second page should contain the abstracts in Slovenian and English. The abstracts should be between 150 and 250 words in length. Research article abstracts should have the following structure: backgrounds, methods, results and conclusions. Review article abstracts and case report abstracts should be unstructured. The purpose of the abstract is to present the aim of the manuscript while recapitulating the content. The abstract should not contain abbreviations. Authors must list up to seven key words, which summarize the content of the manuscript.

Introduction

The authors should present the problem in a brief, yet structured way, proceeding from the general, broad context and already known facts, to the problem itself and its solutions within the manuscript (the so-called funnel structure). In research articles, the introduction should contain a clear hypothesis.

Methods

The methods chapter should describe the protocol authors used to find an answer to a problem or to test the hypothesis. Protocol description should be precise enough to allow for the repeatability of the research. Authors have to state the type and manufacturer of the scientific equipment and chemicals used in the research. Methods and software used for statistical analysis have to be clearly described. The approval of relevant ethical committees must also be

stated (for more information see chapter Ethical considerations and conflicts of interest).

Results

The text of the results chapter should clearly state the main findings, with additional details provided in tables and figures. Authors should avoid repeating the data from the tables and figures in the text. They should provide exact P-values (at least three decimal places).

Discussion, conclusions

The purpose of the discussion is not to recapitulate results, but to interpret them and compare them with relevant existing publications. Conclusions (in review articles or in clinical case reports they should form a separate chapter), are intended for the authors to discuss the implications of their findings and possible considerations for future research.

Tables

Tables should be logically inserted into the text and sequentially numbered. Each table has to be referenced in the text of the manuscript. Tables should contain a title with the sequential number and an explanation of all the abbreviations and non-standard units used in the table.

Figures

Figures should be professionally designed or photographed and submitted in digital form and in print quality (300 DPI). Figures can be submitted as raster graphics (.jpeg, .tiff, .png, .gif etc.) or as vector graphics (.ai, .eps, .cdr etc.) Simple schemes can be created using Microsoft Word® software. Letters, numbers or symbols shown in the figures should be clear, uniform, and large enough to be readable once the figure is minimized. Figures from which the identity of the patient can be determined must be accompanied by written consent of the patient.

In the text, every figure has to be referenced. As well as being inserted into the appropriate place in the manuscript, figures should be also submitted as separate files, with file names containing the sequential number of the figure and the name of the first author of the manuscript. Legends under the figures should contain the sequential number, figure title and the information necessary for the understanding of figure content. Figures together with accompanying legends should be understandable without reading the body text. All abbreviations in the figures must be explained. If you have any doubts about the technical adequacy of figures, please consult the editorial board before submission.

Units of measurement

All units of measurement used in the manuscript should be stated using the International System of Units (SI).

Abbreviations

The chapter headings and abstracts should not contain abbreviations. All non-standard abbreviations should be explained in the following way: the term should be written in full the first time it appears in the text, followed by the abbreviation in parentheses. The exception to this rule are standard units of measurement and abbreviations (3D, aids, AMP, ATP, cAMP, cGMP, CT, DNA, EKG, EUR, GMP, GTP, HIV, MRI, RNA, RTG, US, USA).

References

Every citation or fact stated in the text, figures or tables must be supported with a reference. References should be listed with sequential Arabic numbers in parentheses before the full stop or colon, written in italic formatting (so-called Vancouver citation style). The reference numbers included only in the figures and tables should follow the same sequence as in the text. The section listing all the references appearing

in the manuscript should be included at the end of the manuscript. Reference formatting described in the National Library of Medicine's Citing Medicine guide (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>) should be used. Journal names should be abbreviated as on PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). The names of the first three referenced authors of the manuscript should be stated, followed by et al.

Examples of correct reference formatting:

Journal article

Petek Šter M, Švab I. Bolniki s sočasnimi boleznimi v družinski medicini. *Med Razgl.* 2008; 48 (2): 205–11.

Bajuk Studen K, Preželj J, Kocjan T, et al. Mehanizmi srčno-žilne ogroženosti žensk s sindromom policističnih ovarijev. *Zdrav Vestn.* 2009; 78: 129–35.

Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, et al. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol.* 2005; 62 (1): 112–6.

Journal article with organization as author

American Diabetes Association. Diabetes update. *Nursing.* 2003; Suppl: 19–20, 24.

Journal article volume with supplement

Vesel S. Spremembe na srcu pri Kawasaki bolezni. *Med Razgl.* 2002; 41 Suppl 2: 139–43.

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect.* 1994; 102 Suppl 2: 275–82.

Journal article issue with supplement

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol.* 1996; 23 (1 Suppl 2): 89–97.

Journal article with type of article indicated

Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [izvleček]. *Kidney Int.* 1992; 42: 1285.

Jackson B, Fleming T. A drug is effective if better than a harmless control [pismo uredništvu]. *Nature.* 2005; 434 (7037): 1067.

Book

Ahčan U. Prva pomoč: priročnik s praktičnimi primeri. Ljubljana: Rdeči križ Slovenije; 2007.

Jenkins PF. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005.

Eyre HJ, Lange DP, Morris LB. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; c2002.

Advanced Life Support Group. Acute medical emergencies: the practical approach. London: BMJ Books; 2001.

Chapter in a book

Možina M, Jamšek M, Šarc L, et al. Zastrupitve. In: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: Littera picta; 2005. p. 1143–507.

Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, ed. *The cat: diseases and clinical management*. New York: Churchill Livingstone; 1989. p. 229–332.

Kone BC. Metabolic basis of solute transport. In: Brenner BM, Rector FC, eds. *Brenner and Rector's the kidney*. 8th ed. Vol. 1. Philadelphia: Saunders Elsevier; c2008. p. 130–55.

Conference proceedings

Ferreira de Oliveira MJ, ed. Accessibility and quality of health services. *Proceedings*

of the 28th Meeting of the European Working Group on Operational Research Applied to Health Services (ORAHS); 2002 Jul 28–Aug 2; Rio de Janeiro, Brazil. Frankfurt (Germany): Peter Lang; c2004.

10th International Psoriasis Symposium; 2004 Jun 10–13; Toronto, ON. Chicago: Skin Disease Education Foundation; 2004.

Rice AS, Farquhar-Smith WP, Bridges D, et al. Canabinoids and pain. In: Dostorovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M, eds. Proceedings of the 10th World Congress on Pain; 2002 Aug 17–22; San Diego, CA. Seattle (WA): IASP Press; c2003. p. 437–68.

Dissertations and theses, scientific reports
Šabovič M. Mehanizem fiziološkega in farmakološkega raztapljanja krvnih strdkov [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 1992.

Liu-Ambrose TY. Studies of fall risk and bone morphology in older women with low bone mass [doktorsko delo]. Vancouver (BC): University of British Columbia; 2004.

Weisbaum LD. Human sexuality of children and adolescents: a comprehensive training guide for social work professionals [magistrsko delo]. Long Beach (CA): California State University, Long Beach; 2005.

Legal documents

Zakon o zdravniški službi 1999. Uradni list RS št. 98/1999.

Web sites

AMA: helping doctors help patients [internet]. Chicago: American Medical Association; c1995–2007 [citirano 2007 Feb 22]. Dosegljivo na: <http://www.ama-assn.org/>

Journal articles on the internet

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after

femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [internet]. 2006 [citirano 2007 Jan 5]; 27 (1): 34–7. Dosegljivo na: http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004_069/2004069.web.pdf

Books on the internet

Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, et al., eds. *Harrison's online* [internet]. 16th ed. Columbus (OH): McGraw-Hill Companies; c2006 [citirano 2006 Nov 20]. Dosegljivo na: <http://www.accessmedicine.com/resourceTOC.aspx?resourceID=4>

Databases on the internet

Online Archive of American Folk Medicine [internet]. Los Angeles: Regents of the University of California. 1996 [citirano 2007 Feb 1]. Dosegljivo na: <http://www.folk-med.ucla.edu/>

Journal articles on CD-ROM, DVD, or Disk

Kauffman CA, Bonilla HF. Trends in antibiotic resistance with emphasis on VRE. *FPR* [CD-ROM]. 1998; 20 (10).

Books on CD-ROM, DVD, or Disk

Kacmarek RM. *Advanced respiratory care* [CD-ROM]. Verzija 3.0. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; c2000.

Computer programs on CD-ROM, DVD, or Disk

Meador CR, Pribor HC. *DiagnosisPro: the ultimate differential diagnosis assistant* [CD-ROM]. Verzija 6.0. Los Angeles: Med-Tech USA; 2002.

Forthcoming journal articles

Laking G, Lord J, Fischer A. The economics of diagnosis. *Health Econ*. V tisku 2006.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts and figures should be submitted via e-mail to prispevki@medrazgl.si

The submission should be accompanied by a Letter to the Editor stating the topic

and major findings of the manuscript along with corresponding author's information (full name, phone number and e-mail address).

All submitted manuscripts must be accompanied by the Authorship and Copyright Statement Form, with which the authors confirm that they fulfill the ICMJE criteria for manuscript authorship and that the copyright of all material published is vested in Društvo Medicinski razgledi. All authors must sign the statement form and send the original to the following address: Društvo Medicinski razgledi, Korytkova ulica 2, 1000 Ljubljana, Slovenia. Accepted manuscripts will not be published until signed statements from all authors have been received. The Authorship and Copyright Statement Form is available at http://www.medrazgl.si/arhiv/mr_statement_of_authorship.pdf

EDITORIAL WORK

The editor reviews every submitted manuscript. Accepted manuscripts are forwarded to editorial board members for technical

editing. The manuscripts are then returned to the authors and subsequently forwarded to peerreviewers. The peerreview process is confidential with neither the authors nor the peerreviewers being aware of each other's identity. Manuscripts are also proofread by readers for Slovenian and English. Before publication, authors receive page proofs. The authors must notify the editorial board of any print errors in the page proofs in three working days, as no further corrections are possible afterwards.

The editorial board conducts its work in accordance with the Committee on Publication Ethics (COPE) guidelines, which are available at <http://publicationethics.org/>

Manuscripts which are co-authored by the editor-in-chief, editor, production editors or members of the editorial board are subject to COPE recommendations for an independent and unbiased editing.

Guidelines for manuscript authors were last updated on 23. 3. 2014 and are available at <http://www.medrazgl.si>

MEDICINSKI RAZGLEDI

Biomedical research, professional and review articles

EDITORIAL OFFICE

Društvo Medicinski razgledi
Korytkova ulica 2
1000 Ljubljana
Slovenia

T +386 1 524 23 56 **F** +386 1 543 70 11

E info@medrazgl.si

W www.medrazgl.si

POR: 02014-0050652588

EDITOR-IN-CHIEF

Tilen Kristanc

MANAGING EDITOR

Anžej Hladnik

PRODUCTION EDITORS

Maša Majcen, Jurij Martinčič, Anita
Meglič, Samo Roškar, Gašper Tonin

EDITORIAL BOARD

Tjaša Gortnar, Lucija Kobal, Nina Kobal,
Vanessa Koračin, Katja Kores, Ana Karin
Kozjek, Nik Krajnc, Naneta Legan, Gaja
Markovič, Jure Puc, Uroš Tršan, Lana
Vodnik, Nika Vrabič, Ines Žabkar, Nika
Žagar, Sandra Žunič

READERS FOR SLOVENIAN

Mateja Hočever Gregorič, Gašper Tonin

READER FOR ENGLISH

Lea Turner

DTP

SYNCOMP d. o. o.

PRINTING PRESS

Nonparel d. o. o.

FRONT COVER

Anžej Hladnik

MEDICINSKI RAZGLEDI IS ABSTRACTED AND/OR INDEXED BY

Biological Abstracts, Biomedicina
Slovenica, Bowker International,
Chemical Abstracts, Nutritional
Abstracts

SUPPORTED BY

Faculty of Medicine, Ljubljana
Slovenian Research Agency

Medicinski razgledi is published in four issues a year, 1,800 copies per issue.
Regular price per copy is **6 €**, for students **4 €**, for institutions **10 €**.

COPYRIGHT © MEDICINSKI RAZGLEDI 2019

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means without written permission from the publisher.



- 267** Serotonin Type 2A Receptor: from Biology to Clinical Medicine – *Ivo Kosmačič*
- 279** Respiratory Function in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis – *Tina Bregant, Lea Leonardiš*
- 289** Stimulus Secretion Coupling in Pancreatic β Cells: the Triggering and the Metabolic Amplifying Pathway – *Eva Paradiž, Andraž Stožer, Maša Skelin Klemen*
- 301** Stimulus Secretion Coupling in Pancreatic β Cells: the Neurohormonal Amplifying Pathway – *Eva Paradiž, Maša Skelin Klemen, Andraž Stožer*
- 313** Mummification, Saponification and the Role of Mold in the Decomposition of Corpse – *Petra Bukovec, Simon Rekanovič, Ana Sever, Tomaž Zupanc*
- 331** Mammography Reporting – *Valentina Ahac, Maja Marolt Mušič*
- 341** Sacubitril/Valsartan: Novel Drug for the Treatment of Heart Failure – *Mark Jovanović, Marta Cvijić*
- 353** Subaortic Stenosis in Adult Patient with Bicuspid Aortic Valve – *Tadeja Sotler, Rok Zbačnik, Polonca Kogoj*
- 363** A Rare Case of Closed Flexor Digitorum Profundus Rupture in Zone III of the Palm: a Case Report – *Luka Tomšič Ahčin, Andrej Lapoša*
- 369** Diagnostic challenge
- 375** In memoriam
- 377** News
- 389** List of Graduated Students
- 397** Guidelines for Authors