

Farmacevtski vestnik

STROKOVNO GLASILO SLOVENSKE FARMACIJE • PHARMACEUTICAL JOURNAL OF SLOVENIA

Š T . 5 • D E C E M B E R 2 0 0 6 • L E T N I K 5 7

Odgovorni urednik

Borut Štrukelj

Častni glavni urednik

Aleš Krbavčič

Glavna urednica

Andrijana Tivadar

Uredniški odbor

Tajda Gala Miharija
Stanko Gobec
Katja Gombač Aver
Iztok Grabnar
Janja Marc
Franc Vrečer

Izdajateljski svet

Stane Srčič
Mojca Kerec
Tatjana Kogovšek Vidmar
Mateja Malešič
Zofija Vitkovič
Anamarija Zega
Magda Zimic

Naslov uredništva / Adress of the Editorial Office:

Slovensko farmacevtsko društvo,
Dunajska 184a, 1000 Ljubljana, Telefon (01) 569 26 01
Transakcijski račun pri Novi LB d.d. Ljubljana:
02010-0016686585.

Izhaja šestkrat letno.

Letna naročnina je 15.000 SIT, za člane SFD je vključena v članarino.

Za tuje naročnike 100 US\$.

Avtor fotografije na naslovnici, Samo Kreft

Tiska: COLLEGIUM GRAPHICUM

Naklada: 3.100 izvodov

Letnik 2006 sofinancira Javna agencija RS za raziskovalno dejavnost.

Farmacevtski vestnik (Pharmaceutical Journal of Slovenia) is published quarterly by the Slovenian Pharmaceutical Society, Subscription rate in inland 15.000 SIT other countries US\$ 100.

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

UVODNIK

Tako, pa se je leto 2006 privesilo k koncu. Nastopil bo čas, ko bomo v mislih preleteli dogodke leta, ki so tako ali drugače vplivali in zaznamovali nas, naše bližnje in naše okolje. In kaj je v letu 2006 vplivalo na slovensko farmacijo? Prav gotovo ugibanja in priprave na prestrukturiranje javnih lekarn, kjer še vedno sicer ne vemo kako, a vemo, da se bo zgodilo. In seveda, nikoli končana bitka farmacevtov za položaj in mesto na lestvici cenjenosti poklicev, kar bo nedvomno vplivalo tudi na sistem plačnih razredov, ki nam ga že dve leti obljublja vlada, sprejet pa bo verjetno v prvi polovici leta 2007. In kje smo na tej lestvici farmacevti? Predlog, ki je za nas popolnoma nesprejemljiv, je tam okoli devetindvajsetega plačnega razreda, kar nas uvršča med medicinske sestre. Kako je to mogoče? Ja, tako nas pač vidijo! Kje gre torej iskati razlog za slabšo prepoznavnost tega tako lepega, a zahtevnega farmacevtskega poklica? Razloge je mogoče povezati v dve skupini: premajhna izpostavljenost navzven z nastopanjem in pojavljanjem v medijih in še vedno premajhna samozavest v odnosih v stroki in med bližnjimi strokami. Medtem, ko se razlogi prve skupine sorazmerno hitro lahko odpravijo, pa potrebujemo še veliko let za odpravo razlogov druge skupine. Poklicna samozavest nastopa z roko v roki s sodobnim znanjem. Poskrbimo, da bo tega dovolj, da ga nadgrajujemo in sproti dopolnjujemo. Lepo se je srečati s kolegi na strokovnih izpopolnjevanjih, a vseeno to ni glavni namen. Uporabljajmo vse oblike izobraževanja, ki nam bodo dali zmagovalno karto znanja v roke! Magister, magistra farmacije je delaven, urejen, mogoče tih in nekonflikten? Sprememimo stereotip, bodimo glasni, bodimo prepoznavni. Mogoče bomo tako pripomogli še k pestrejšemu letu, ki prihaja.

Pestra pa je tudi vsebina Farmacevtskega vestnika, ki ga imate v rokah. V prvem delu so predstavljeni štirje pregledni članki: o hitosanu, sladkih proteinih kot alternativni nadomestki za sladkor, narejena je primerjava med človeškim prebavnim traktom in prebavili pri poskusnih živalih, kjer opažamo večje razlike, kot bi pričakovali. Prispevek iz zgodovine lekarniškega dela na Slovenskem pa skozi stoletja prikazuje obstoj normativnih lekarniških knjig. Drug del sestavljata dva izvirna znanstvena članka iz področja molekularne imunologije in klinične farmacije. Prvi prispevek opisuje, kako majhna sprememba električnega toka lahko bistveno spremeni specifičnost protiteles, v prispevku iz področja klinične farmacije pa se avtorji spopadejo s problemom družbenega bremena sladkorne bolezni.

Novice iz sveta farmacije nam razkrijejo sicer zelo redek neželeni učinek oseltamivira: nekontrolirano vedenjsko obnašanje, predvsem pri mladostnikih. Zanimiva pa je tudi ugotovitev o antagonističnih učinkih acetilsalicine kisline in ostalih NSAID, prihajajo nova biološka zdravila za zdravljenje Chronove bolezni, vsi pa se veselimo novih pristopov k odstranjevanju neželenih bakterij, ki povzročajo karies, v ustni votlini.

In na koncu, dovolite mi, da se vam v imenu uredništva Farmacevtskega vestnika zahvalim za spremljanje vsebin Vestnika v iztekajočem letu, za vaše pripevke in mnenja in vam želim obilo uspehov v letu 2007.

Prof.dr. Borut Štrukelj

Vsebina

Pregledni članki – Review articles

Mojca Kerec Kos

Uporaba hitosana v farmaciji

The use of chitosan in pharmacy

287

Aleš Berlec, Borut Štrukelj

Proteini sladkega okusa kot alternativna sladila

Sweet-tasting proteins as alternative sweeteners

292

Polona Smrdel, Marija Bogataj, Aleš Mrhar

Primerjava pogojev v prebavnem traktu med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi s stališča ciljane dostave v kolon

Comparison of gastrointestinal conditions of human and laboratory animals from the colon delivery viewpoint

298

Pavle Jović

Normativne lekarniške knjige na Slovenskem skozi stoletja

Standard pharmaceutical books in Slovenia during centuries

305

Originalni znanstveni članki – Scientific articles

Jasna Omersel, Borut Božič

Sprememba specifičnosti imunoglobulinov razreda G pod vplivom elektro-oksidacije

Changes in specificity of class G immunoglobulins after electro-oxidation

311

Julija Jelić, Jože Drinovec, Aleš Mrhar

Družbeno breme sladkorne bolezni tipa 2

Burden of type 2 diabetes

316

Novice iz sveta farmacije

Dodatni previdnostni ukrepi pri uporabi učinkovine oseltamivir

Ibuprofen lahko zmanjša zaščitne učinke acetilsalicilne kisline

Prihajajo nova biološka zdravila za zdravljenje Chronove bolezni

Nič več vrtanja zob - nov pristop preprečevanja zobnega kariesa

325

Osebne vesti

V spomin na Vido Vučič

328

Iz društvenega življenja

Poročilo s 66. FIP kongresa

Poročilo s 35. kongresa ESCP – Evropskega društva kliničnih farmacevtov

Program strokovnih srečanj SFD v letu 2007

329

Letno kazalo

332

Uporaba hitosana v farmaciji

The use of chitosan in pharmacy

Mojca Kerec Kos

Povzetek Hitosan je biokompatibilen in biorazgradljiv kationski polimer, ki ga pridobivajo iz polisaharida hitina. V zadnjih letih mu posvečajo vedno več pozornosti v razvoju novih dostavnih sistemov, zlasti zaradi njegovih bioadhezivnih lastnosti ter sposobnosti pospeševanja absorpcije učinkovin skozi različne sluznice. Poleg tega naj bi hitosan znižal krvno koncentracijo holesterola in trigliceridov, deloval protimikrobno ter pospešil celjenje ran.

Ključne besede: hitosan, pospeševanje absorpcije, bioadhezija, dostavni sistemi

Abstract Chitosan is biocompatible and biodegradable cationic polymer, obtained from the polysaccharide chitin. In the last few years it is often incorporated in the novel drug delivery systems due to its bioadhesion and the ability to enhance the absorption of drugs across different mucosae. Moreover, chitosan is supposed to reduce the plasma cholesterol and triglyceride levels and to have antimicrobial and wound healing activity.

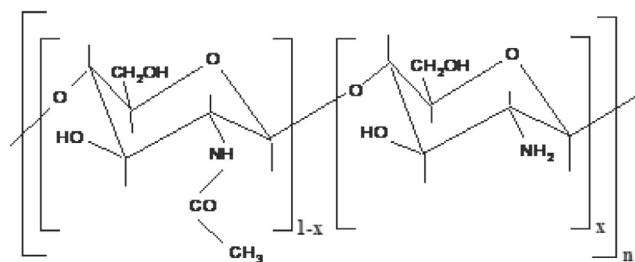
Keywords: chitosan, absorption enhancement, bioadhesion, drug delivery systems

1 Uvod

Pri razvoju novih dostavnih sistemov se vedno večja pozornost usmerja v pomožne snovi, ki lahko izboljšajo biološko uporabnost vgrajenih učinkovin. Obetavne rezultate dajejo polimeri, ki so bioadhezivni, hkrati pa imajo sposobnost povečanja permeabilnosti različnih sluznic. Takšnim zahtevam ustreza biokompatibilen ter biorazgradljiv polimer hitosan, ki hkrati izkazuje nekatere ugodne farmakološke lastnosti, ki še dodatno povečujejo uporabnost tega kationskega polimera v farmaciji (1, 2).

2 Splošne lastnosti

Hitosan je kemijsko kopolimer $\beta(1-4)$ povezanih enot glukozamina in N-acetilglukozamina. Njegova strukturna formula je prikazana na sliki 1.



Slika 1: Struktura hitosana; n = število sladkornih enot polimera, x = stopnja deacetiliranja (3).

Figure 1: Structure of chitosan; n = number of sugar units per polymer, x = degree of deacetylation (3).

Hitosan pridobivajo z delnim deacetiliranjem polimera hitina, ki je sestavljen iz N-acetilglukozaminskih enot in je za celulozo drugi najbolj razširjen polisaharid v naravi. Najdemo ga v oklepih rakov, pa tudi pri nekaterih insektih in gobah. Zaradi izredno slabe topnosti hitina v vodnih raztopinah je za industrijsko uporabo bolj primeren hitosan, vendar je tudi hitosan topen le v kisljih raztopinah, pri alkalnem in nevtralnem pH pa je netopen. Proizvajajo hitosan z različno molekulsko maso, viskoznostjo in stopnjo deacetiliranja. Na topnost v vodnih raztopinah vpliva tudi stopnja deacetiliranja – hitosan s 40 % stopnjo deacetiliranja je topen do pH 9, medtem ko je pri 85 % stopnji deacetiliranja topen samo do pH 6,5. Z anorganskimi in organskimi kislinami, kot so glutaminska, klorovodikova, mlečna in očetna kislina, tvori soli. Viskoznost disperzij hitosana narašča z nižanjem temperature, z večanjem koncentracije hitosana in z večanjem stopnje deacetiliranja (1-5).

Hitosan ima majhno peroralno toksičnost, saj je LD_{50} pri podganah 16 g/kg telesne teže. Toksičnost je odvisna od stopnje deacetiliranja, molekulske mase, čistosti hitosana ter od načina aplikacije. Za humano uporabo se priporoča le hitosan najvišje stopnje čistote (1, 6).

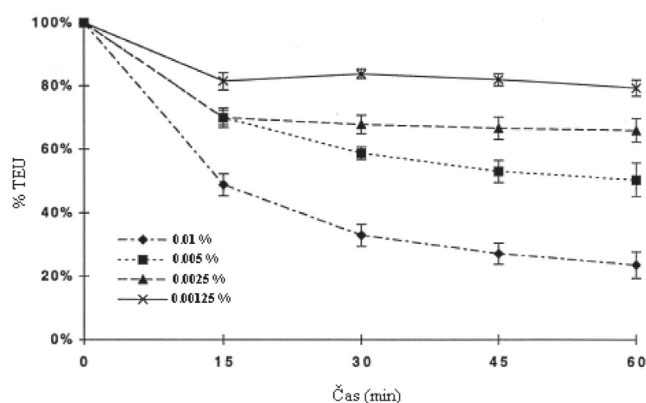
3 Sposobnost pospeševanja absorpcije

Hitosan učinkovito poveča permeabilnost različnih sluznic. Pri poskusnih živalih (ovce, podgane) so v prisotnosti hitosana ugotovili povečan prehod s fluorescein izotiocianatom označenega dekstrana, inzulina ter lososovega kalcitonina skozi nosno sluznico (3, 7, 8). Prav tako hitosan poveča permeabilnost bukalne sluznice za hidrokortizol, rastni faktor TGF – β ter aciklovir (9, 10). Absorpcija aciklovirja je v prisotnosti hitosana povečana tudi skozi prašičjo vaginalno sluznico (10). Hitosan spremeni tudi permeabilnostne lastnosti očne sluznice (11) ter stene sečnega mehurja. Že 0,0005 % ut/vol

Pregledni članki - Review Articles

disperzija hitosana značilno poveča prehod modelnih učinkovin (kinolonov) v steno prašičjega sečnega mehurja, pri 0,001 % ut/vol koncentraciji pa je dosežen maksimalen učinek hitosana kot pospeševalca absorpcije (12).

Največ raziskav s hitosanom kot pospeševalcem absorpcije je narejenih na Caco-2 celicah, ki se uporabljajo kot model intestinalnega epitelijskega. Merilo za paracelularno permeabilnost Caco-2 celic je transepitelijska električna upornost. Višja kot je uporabljena koncentracija hitosana, manjša je transepitelijska električna upornost Caco-2 celic, pri čemer je učinek hitosana tudi pri nizkih koncentracijah viden že v 15 minutah (slika 2). Pri enourni izpostavljenosti je z 0,1 % ut/vol hitosanom dosežen prag delovanja tako na transepitelijsko električno upornost kot tudi na transport modelne spojine manitola skozi Caco-2 celice (13).



Slika 2: Vpliv koncentracije in časa delovanja hitosana na transepitelijsko električno upornost (TEU) Caco-2 celic (13).

Figure 2: The time and concentration dependence of the effect of chitosan on transepithelial electrical resistance (TEU) of Caco-2 cells (13).

Na pospeševanje absorpcije s hitosanom vplivata stopnja deacetiliranja ter molekulska masa polimera. Hitosani z visoko stopnjo deacetiliranja (99 in 85 %) povečajo absorpcijo ^{14}C -manitola skozi Caco-2 monosloj pri majhnih in velikih molekulskih masah, vendar je pri teh hitosanih očitno izražena od odmerka odvisna toksičnost. Hitosani s 65 in 51 % stopnjo deacetiliranja so manj toksični, učinkoviti pa so le pri večjih molekulskih masah (14).

Učinek hitosana je odvisen tudi od prisotnosti mukusa na površini epitelijskih celic. Hitosan v večji meri pospeši absorpcijo manitola skozi Caco-2 celice, ki niso pokrite z mukusom, kot skozi intestinalne epitelijske celice HT29-H, ki so pokrite s 40-60 μm debelo plastjo mukusa. V primeru, ko so celicam HT29-H z večkratnim spiranjem odstranili mukusno plast, je imel hitosan večji vpliv na prehod manitola skozi te celice. Mukus ovira interakcije hitosana z negativno nabitimi glikoproteini na površini celičnih membran (15).

Hitosan je občutljiv na prisotnost večvalentnih kationov. V primeru, ko so na Caco-2 celice skupaj z 0,002 % ut/vol disperzijo hitosana nanесли še 20 mM Ca^{2+} ali Mn^{2+} ionov, so le-ti značilno zmanjšali absorpcijo modelne spojine inulina v primerjavi s samo disperzijo hitosana. Mg^{2+} ioni niso imeli vpliva na pospeševanje absorpcije s

hitosanom. Divalentni kationi lahko vplivajo na celično permeabilnost preko vezalnih mest na samem hitosan ali na celični membrani (16).

3.1 Različni derivati hitosana

V zgoraj navedenih raziskavah je bil kot pospeševalec absorpcije uporabljen hitosan v obliki glutamata ali klorida. Na sposobnost obeh soli, da povečata permeabilnost Caco-2 celic, vpliva pH vrednost disperzije hitosana. Hitosan vstopa v interakcije z negativno nabitimi mesti na celični membrani preko pozitivno nabitih amino skupin. Navidezni pK_a hitosana je okoli 6,5 in z nižanjem pH vrednosti disperzij se transport manitola skozi Caco-2 celice povečuje. Večja gostota naboja pri nižjem pH omogoči hitosan boljši stik z epitelijsko membrano. Pri pH 7,4 sta obe soli netopni in ne vplivata na permeabilnost Caco-2 celic (17).

Kot pospeševalci absorpcije se uporabljajo tudi nekateri drugi derivati hitosana. Delno kvarterniziran N-trimetil hitosan klorid je v enakih koncentracijah sicer manj učinkovit kot hitosan v obliki klorida ali glutamata, je pa zaradi svoje strukture topen pri pH 7,4, kjer sta drugi dve soli netopni in zato neučinkoviti (18, 19). Na učinkovitost pospeševanja absorpcije z N-trimetil hitosanom pomembno vpliva stopnja kvarternizacije te spojine. V "in vivo" poskusih na podganah se je nazalna absorpcija ^{14}C -manitola pri pH 7,4 povečevala z večanjem stopnje kvarternizacije N-trimetil hitosana, dokler ni pri 48 % kvarternizacije prišlo do maksimalne absorpcije manitola. Nadaljnje povečevanje stopnje kvarternizacije ni povečalo absorpcije manitola, kar so razložili s steričnim oviranjem metilnih skupin in s spremembami v fleksibilnosti molekul N-trimetil hitosana (20).

Pri nevtralnem pH ima dobro topnost tudi mono-N-karboksimitil hitosan. Gre za derivat hitosana v obliki iona dvojčka, ki je kompatibilen tudi s polianionskimi substancami (npr. s heparinom), v prisotnosti katerih se hitosan v obliki klorida ali glutamata ter N-trimetil hitosan obarjajo. Pri nevtralnem pH vrednostih je za enak učinek potrebna nekajkrat višja koncentracija mono-N-karboksimitil hitosana kot N-trimetil hitosana (21).

V raziskavi so tudi hitosani z dodanimi tiolnimi skupinami, t.i. tiohitosani. Ti imajo v primerjavi s hitosanom v obliki glutamata ali klorida večjo sposobnost pospeševanja absorpcije, ki je posledica zaviranja encima tirozin fosfataze, ki ima pomembno vlogo pri uravnavanju odprtosti tesnih stikov. Zaviranje tega encima povzroči odprtje tesnih stikov (22).

3.2 Mehanizem pospeševanja absorpcije

Mehanizem, s katerim hitosan poveča absorpcijo učinkovin, je raziskan predvsem na Caco-2 celicah. Za razliko od polikarbofila, ki je prav tako znan pospeševalec absorpcije, hitosan ne zavira aktivnosti serinskih proteaz, kar bi preprečilo razgradnjo peptidnih učinkovin (23). Hitosan vpliva na strukturne elemente tesnih stikov ter na citoskelet Caco-2 celic. Hitosan povzroči depolimerizacijo citoskeletnega F-aktina ter spremembe lokacij proteinov tesnih stikov ZO-1 in okcludina (13,16, 17, 24). Vpliv hitosana na citoskeletni F-aktin poveča paracelularno permeabilnost, saj je F-aktin povezan s proteini tesnih stikov (18). Poleg tega so kationske makromolekule kot je hitosan sposobne zamenjati katione v tesnih stikih, katerih notranjost

je visoko hidratirana in vsebuje stalen negativni naboj. Že majhne spremembe v koncentraciji posameznih vrst ionov znotraj tesnega stika lahko vodijo do velikih sprememb v prepustnosti teh stikov (17).

Vpliv hitosana na paracelularno permeabilnost Caco-2 celic je reverzibilen. Po enurni izpostavitvi hitosanu v koncentracijah od 0,00125 do 0,01 % ut/vol se permeabilnostni koeficient manitola ter transepitelijska električna upornost Caco-2 celic v 24 urah vrneta na enake vrednosti kot pri celicah, ki niso bile izpostavljene hitosanu. Pri večjih koncentracijah hitosana je za vzpostavitev prvotne membranske integritete potrebna sinteza proteinov. V primeru, ko so Caco-2 celice najprej za 30 minut izpostavili 0,5 % ut/vol hitosanu in jih nato 24 ur inkubirali s cikloheksimidom (inhibitor sinteze proteinov), učinek hitosana ni bil reverzibilen (13).

Mehanizem pospeševanja absorpcije s hitosanom je popolnoma drugačen v sečnem mehurju. V koncentracijah, ki značilno povečajo prehod modelnih učinkovin v steno prašičjega sečnega mehurja, hitosan povzroči luščenje zgornjih celičnih slojev epitelijskega mehurja. S tem se odstranijo permeabilnostne bariere, ki pri intaktnem sečnem mehurju preprečijo prehod snovi iz urina v steno mehurja (12). Za ostale sluznice je mehanizem pospeševanja absorpcije s hitosanom manj raziskan.

4 Bioadhezivne lastnosti

Hitosan izkazuje dobre bioadhezivne lastnosti, ki so predvsem posledica tvorbe vodikovih in ionskih vezi med pozitivno nabitimi amino skupinami polimera ter negativno nabito sialično kislino, prisotno v glikoproteinih na površini sluznice. Tiohitosani omogočajo še močnejšo bioadhezijo in sicer zaradi tvorbe kovalentnih vezi tiolnih skupin polimera s površinskimi glikoproteini. Hitosan se lahko adheirira tako na trda kot mehka tkiva, je pa bioadhezija hitosana omejena s topnostjo posameznih derivatov tega polimera (22, 25). Na sluznici sečnega mehurja ima hitosan v obliki klorida večjo jakost bioadhezije kot anionska polimera polikarbofil in natrijeva karboksimefil celuloza. To je najverjetneje posledica večjega odboja med negativno nabitimi polimeri in glikozaminoglikani na površini sluznice (26). Na prašičji intestinalni sluznici so rezultati ravno obratni: polikarbofil ima večjo jakost bioadhezije kot hitosan. Največja razlika med polimeroma je opazna pri pH 1,2, kjer je zaradi dobre topnosti hitosana njegova sposobnost bioadhezije šibka in dokaj kratkotrajna (27).

5 Dostavni sistemi s hitosanom

Hitosan se zaradi dobrih bioadhezivnih lastnosti pogosto uporablja v razvoju novih dostavnih sistemov. Bioadhezivni sistemi za dostavo učinkovin izboljšajo biološko uporabnost vgrajenih učinkovin v primerjavi s klasičnimi dostavnimi sistemi, saj podaljšajo čas zadrževanja učinkovine na mestu adhezije ter omogočijo tesnejši stik farmacevtske oblike s sluznico, skozi katero se učinkovina absorbira. Poleg bioadhezivnih lastnosti se pri načrtovanju dostavnih sistemov izkorišča tudi sposobnost hitosana, da poveča absorpcijo učinkovin skozi različne sluznice (3, 28).

V razvoju so številni dostavni sistemi s hitosanom, najpogostejše pa hitosan sestavlja mikro in nanodelce ter liposome. Dostavni sistemi

mikro in nanometrskih velikosti se lahko aplicirajo parenteralno ali na različne sluznice, kjer hitosan s kombinacijo bioadhezije in pospeševanja absorpcije poveča biološko uporabnost vgrajenih učinkovin. V teh dostavnih sistemih so lahko vgrajene polarne učinkovine, proteini, antigeni in DNK fragmenti, hitosan pa je lahko uporabljen kot ogrodni polimer ali le kot sredstvo za oblaganje. Za liposome obložene s hitosanom je značilna boljše ciljana dostava ter večja fizikalna in kemijska stabilnost v primerjavi z neobloženimi liposomi (2, 28, 30–32).

Za peroralna in nazalna cepiva so obetavni hitosanski nano in mikrodelci, v katere je vgrajen antigen (npr. tetanusni ali difterijski toksoid), ki je s tem zaščiten pred razgradnjo. Prednost takšnega cepljenja v primerjavi s klasičnim parenteralnim je manjša invazivnost ter lokalna tvorba protiteles na mestu, kjer patogeni vstopajo v organizem. Poleg lokalnega imunskega odziva v sluznici se sproži tudi sistemski imunski odziv. Takšno cepljenje je primerno zlasti za obolenja, kjer patogeni vstopajo v organizem skozi sluznice. Za peroralna cepiva je pomembno, da so aplicirani delci manjši od 10 µm in lahko prehajajo v Peyerjeve ploščice črevesnega limfatičnega tkiva. V primeru nazalnih cepiv vgradnja antigena v mikro in nano delce ni nujna, saj za razliko od peroralne aplikacije pri nazalnih cepivih antigen ni izpostavljen nizkim pH vrednostim in razgradnim encimom. Tako se lahko antigen namenjeni nazalnemu cepljenju aplicirajo skupaj s hitosanom v obliki raztopine ali praška (33).

Hitosan daje dobre rezultate tudi v razvoju dostavnih sistemov za vnos genov. Kationski hitosan, ki tvori komplekse z negativno nabito DNK, poveča učinkovitost transformacije; dodatek ustreznih ligandov h kompleksu hitosan-DNK pa lahko dodatno izboljša uspešnost vnosa gena s pomočjo receptorsko posredovane endocitoze. Prednost hitosana pred drugimi sintezniimi vektorji je njegova majhna citotoksičnost (3).

Hitosan se lahko uporablja tudi v dostavnih sistemih za kolon, kjer se izkorišča razgradnja tega polimera z bakterijskimi encimi v kolonu. Hitrost razgradnje je odvisna od molekulske mase ter stopnje deacetiliranja hitosana (29).

6 Drugi nameni uporabe hitosana v farmaciji

Hitosan najdemo v pripravkih za znižanje telesne teže. Z "in vivo" poskusi na podganah ter v študijah na ljudeh so ugotovili, da vsakodnevno peroralno jemanje hitosana zniža nivo plazemskega holesterola in trigliceridov ter poveča izločanje žolčnih kislin in maščob z blatom (34). Hitosan naj bi v prebavnem traktu tvoril gel, ki veže lipide ter ostala hranila, med drugim tudi v lipidih topne vitamine in minerale, in s tem zmanjša njihovo absorpcijo (34, 35). V nasprotju s temi študijami pa v drugih raziskavah (36, 37) niso potrdili statistično značilnega vpliva hitosana na znižanje telesne teže ter na povečano izločanje maščob z blatom. V raziskavah na podganah so ugotovili, da ima dolgotrajna uporaba hitosana lahko tudi negativne posledice. Povzroči lahko pomanjkanje lipidotopnih vitaminov v plazmi, zaostajanje v rasti, zmanjšanje mineralne gostote krvi, kar lahko ob hkratni zmanjšani absorpciji kalcija in vitamina D iz prebavil vodi do osteoporoze ter spremembe normalne črevesne flore, kar lahko povzroči razrast odpornih patogenov (34).

Pregledni članki - Review Articles

Hitosan naj bi pospešil tudi celjenje ran. Ob aplikaciji na površinske rane, naj bi se hitosan vezal na fibroblaste in spodbujal proliferacijo keratinocitov ter s tem obnavljanje pokožnice. Poleg tega naj bi hitosan aktiviral obrambni sistem gostitelja in s tem preprečil okužbo rane. Povečal naj bi aktivnost polimorfonuklearnih levkocitov in makrofagov. Hitosan naj bi zaviral tudi rast in razmnoževanje bakterij. Hitosan se adsorbira na površino bakterij, pri čemer povzroči spremembe v strukturi celične stene ter v prepustnosti celične membrane, kar oboje vodi v smrt bakterij. Protimikrobni učinek hitosana je v tesni povezavi s površinskimi lastnostmi celične stene bakterij, kot sta hidrofilnost ter naboj. Na Japonskem so že na tržišču pripravki s hitosanom v obliki hidrogela, praška in zrnc namenjeni celjenju ran (29, 38).

7 Zaključek

Hitosan je polimer velikih potencialov za uporabo v farmaciji. Zaradi bioadhezivnih lastnosti podaljša čas zadrževanja dostavnega sistema na mestu absorpcije, poleg tega poveča permeabilnost sluznice, kjer poteka absorpcija. Oboje poveča biološko uporabnost učinkovin, kar je pogosto cilj razvoja novih dostavnih sistemov. Hitosan lahko sestavlja mikro in nanodelce ter liposome, ki so namenjeni vnosu polarnih učinkovin, proteinov, antigenov ali DNK v organizem. Vedno več raziskav je usmerjenih v farmakološke lastnosti, ki jih izkazuje ta nizko toksičen polimer in bodo v prihodnosti uporabo tega polimera v farmaciji morda še povečale.

8 Literatura

1. Singla AK, Chawla M. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects – an update. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53: 1047-1067.
2. Felt O, Buri P, Gurny R. Chitosan: A unique polysaccharide for drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm* 1998; 24: 979-993.
3. Dodane V, Vilivalam VD. Pharmaceutical applications of chitosan. *PSTT* 1998; 1: 246-253.
4. Thanou M, Verhoef JC, Junginger HE. Chitosan and its derivatives as intestinal absorption enhancers. *Adv Drug Del Rev* 2001; 50: S91-S101.
5. Anthonsen MW. Chitosan, chemical structure and physical properties. Doktorska disertacija, Norveški tehnološki inštitut, Oddelek za biotehnologijo, Trondheim, Norveška, 1993.
6. Hejazi R, Amiji M. Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. *J Control Release* 2003; 89: 151-165.
7. Natsume H, Iwata S, Ohtake K, et al. Screening of cationic compounds as an absorption enhancer for nasal drug delivery. *Int J Pharm* 1999; 185: 1-12.
8. Sinswat P, Tengamnuy P. Enhancing effect of chitosan on nasal absorption of salmon calcitonin in rats: comparison with hydroxypropyl- and dimethyl- β -cyclodextrins. *Int J Pharm* 2003; 257: 15-22.
9. Şenel S, Hincal AA. Drug permeation enhancement via buccal route: possibilities and limitations. *J Control Rel* 2001; 72: 133-144.
10. Sandri G, Rossi S, Ferrari F, et al. Assessment of chitosan derivatives as buccal and vaginal penetration enhancers. *Eur J Pharm Sci* 2004; 21: 351-359.
11. Alonso MJ, Sánchez A. The potential of chitosan in ocular drug delivery. *J Pharm Pharmacol* 2003; 55: 1451-1463.
12. Kerec M, Bogataj M, Veranič P, et al. Permeability of pig urinary bladder wall: Time and concentration dependent effect of chitosan. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 1685-1691.
13. Dodane V, Khan MA, Merwin JR. Effect of chitosan on epithelial permeability and structure. *Int J Pharm* 1999; 182: 21-32.
14. Schipper NGM, Vårum KM, Artursson P. Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs. 1: Influence of molecular weight and degree of acetylation on drug transport across human intestinal epithelial (Caco-2) cells. *Pharm Res* 1996; 13: 1686-1692.
15. Schipper NGM, Vårum KM, Stenberg P, et al. Chitosans as absorption enhancers of poorly absorbable drugs. 3: Influence of mucus on absorption enhancement. *Eur J Pharm* 1999; 8: 335-343.
16. Ranaldi G, Marigliano I, Vespignani I, et al. The effect of chitosan and other polycations on the tight junction permeability in the human intestinal Caco-2 line. *J Nutr Biochem* 2002; 13: 157-167.
17. Artursson P, Lindmark T, Davis SS, et al. Effect of chitosan on the permeability of monolayers on intestinal epithelial cells (Caco-2). *Pharm Res* 1994; 11: 1358-1361.
18. Kotzé AF, Lueßen HL, de Leeuw BJ, et al. Comparison of the effect of different chitosan salts and N-trimethyl chitosan chloride on the permeability of intestinal epithelial cells (Caco-2). *J Control Rel* 1998; 51: 35-46.
19. Thanou M, Florea BI, Langemeijer MWE, et al. N-trimethylated chitosan chloride (TMC) improves the intestinal permeation of the peptide drug buserelin in vitro (Caco-2 cells) and in vivo (rats). *Pharm Res* 2000; 17: 27-31.
20. Hamman JH, Stander M, Kotzé AF. Effect of the degree of quaternisation of N-trimethyl chitosan chloride on absorption enhancement: in vivo evaluation in rat nasal epithelium. *Int J Pharm* 2002; 232: 235-242.
21. Thanou M, Verhoef JC, Junginger HE. Oral drug enhancement by chitosan and its derivatives. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 52: 117-126.
22. Bernkop-Schnürch A, Hornof M, Guggi D. Thiolated chitosans. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 57: 9-17.
23. Kotzé AF, de Leeuw BJ, Lueßen HL, et al. Chitosans for enhanced delivery of therapeutic peptides across intestinal epithelia: in vitro evaluation in Caco-2 cells. *Int J Pharm* 1997; 159: 243-254.
24. Schipper NGM, Olsson S, Hoogstraate JA, et al. Chitosans as absorption enhancers for poorly absorbable drugs 2: Mechanism of absorption enhancement. *Pharm Res* 1997; 14: 923-929.
25. Dodou D, Breedveld P, Wieringa PA. Mucoadhesives in the gastrointestinal tract: revisiting the literature for novel applications. *Eur J Pharm Biopharm* 2005; 60: 1-16.
26. Bogataj M, Vovk T, Kerec M, et al. The correlation between zeta potential and mucoadhesion strength on pig vesical mucosa. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 743-746.
27. Lehr CM, Bouwstra JA, Schacht EH, et al. In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. *Int J Pharm* 1992; 78: 43-48.

28. Takeuchi H, Yamamoto H, Kawashima Y. Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 47: 39-54.
29. Şenel S, McClure SJ. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56:1467-1480.
30. He P, Davis SS, Illum L. In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. *Int J Pharm* 1998; 166: 75-88.
31. Takeuchi H, Matsui Y, Yamamoto H, et al. Mucoadhesive properties of carbopol or chitosan-coated liposomes and their effectiveness in the oral administration of calcitonin to rats. *J Control Rel* 2003; 86: 235-242.
32. Burjak M, Bogataj M, Velnar M, et al. The study of drug release from microspheres adhered on pig vesical mucosa. *Int J Pharm* 2001; 224: 123-130.
33. van der Lubben IM, Verhoef JC, Borchard G, et al. Chitosan for mucosal vaccination. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 52: 139-144.
34. Koide SS. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. *Nutr Res* 1998; 18: 1091-1101.
35. Gallaher CM, Munion J, Hesslink R, et al. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *J Nutr* 2000; 130: 2753-2759.
36. Pittler MH, Abbot NC, Harkness EF, et al. Randomized, double-blind trial of chitosan for body weight reduction. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 379-381.
37. Guercioli R, Radu-Radulescu L, Boldrin M, et al. Comparative evaluation of fecal fat excretion induced by orlistat and chitosan. *Obes Res* 2001; 9: 364-367.
38. Chung YC, Su YP, Chen CC, et al. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25: 932-936.

Proteini sladkega okusa kot alternativna sladila

Sweet-tasting proteins as alternative sweeteners

Aleš Berlec, Borut Štrukelj

Povzetek: Sladek okus zbuja pri ljudeh prijetne občutke, zato se sladkim jedem v prehrani nismo pripravljene odreči. Namizni sladkor (saharoza) je najpogostejše uporabljeno sladilo, ki pa ga pogosto povezujemo z določenimi zdravstvenimi tveganji, zlasti debelostjo, diabetesom in kariesom. K zmanjšanju uporabe namiznega sladkorja bi lahko pripomogla večja uporaba alternativnih sladil. Nekatera od njih predstavljamo v članku. Poseben razred alternativnih sladil tvorijo proteini sladkega okusa. Zaenkrat jih poznamo sedem (taumatin, monelin, brazein, pentadin, mabinlin, kurkulin, mirakulin) in so od nekaj sto do več tisočkrat bolj sladki od saharoze. Njihova prednost sta tudi varnost in naraven izvor.

Ključne besede: sladkor, saharoza, alternativna sladila, proteini sladkega okusa, taumatin, monelin, brazein

Abstract: Sweet taste elicits pleasant feelings in humans and for this reason sweet-tasting food still represents an important part of our diet. Table sugar (sucrose) is the most widely used sweetener. It is often related to certain health risks, such as obesity, diabetes and caries. Greater use of alternative sweeteners could contribute to reduced use of table sugar. Most common alternative sweeteners are presented in the article. Sweet-tasting proteins represent a distinct class of alternative sweeteners. Currently, there are seven sweet-tasting proteins known (thaumatin, monellin, brazzein, pentadin, mabinlin, curculin, miraculin), which are several hundred to several thousand times sweeter than sucrose. Their advantages are safety and natural origin.

Keywords: sugar, sucrose, alternative sweeteners, sweet-tasting proteins, thaumatin, monellin, brazzein

1 Uvod

V vsakdanjem življenju pogosto enačimo besedo »sladko« z nečim negativnim, celo pregrešnim. Sladkor povezujemo s prekomernim vnosom kalorij, znan je njegov vpliv na karies. Pri diabetesu se njegov vnos nadzoruje in omejuje. Uporabo sladkorja bi lahko omejili na račun večje rabe alternativnih sladil. Vendar pa se tudi alternativna sladila pogosto povezuje z zdravstvenim tveganjem, zlasti za razvoj rakavih obolenj. Namen tega članka je razširiti vpogled v alternativna sladila, še posebej v nekoliko manj znana, kot so proteini sladkega okusa.

V življenju se vsakodnevno srečujemo z izrazi sladkor, sladkorji, ogljikovi hidrati, umetna sladila, alternativna sladila. Ker so izrazi nekoliko dvoumni in se pogosto uporabljajo nepravilno, jih bomo uvodoma nekoliko natančneje definirali.

Beseda sladkorji se v najširšem pomenu pogosto uporablja na nepravilen način za opis ogljikovih hidratov. V ožjem pomenu se beseda sladkorji uporablja za enostavne ogljikove hidrate, ki so sladkega okusa, t. j. monosaharide (glukoza, fruktoza, galaktoza) in disaharide (saharoza, maltoza, laktoza, trehaloza). Beseda sladkor je v vsakodnevem življenju sinonim za namizni, jedilni sladkor ali saharozo. Poleg sladkorjev se za slajenje zlasti v industrijskem merilu pogosto uporabljajo tudi umetna ali alternativna sladila. Izraz alternativna je mogoče ustreznejši, saj vsa niso sinteznega ali polsinteznega izvora.

1.1 Snovi sladkega okusa

Ljudje smo sposobni ločevanja med petimi različnimi okusi: sladkim, grenkim, kislim, slanim in okusom glutamata (umami, iz jap. *umai*, kar pomeni slasten) (1, 2). Snovi sladkega okusa zbuja pri človeku prijetne občutke, za razliko od grenkih snovi, ki človeka odvrčajo od zaužitja. To dejstvo je evolucijskega pomena, saj omogoča ločevanje visokokaloričnih virov hrane (sladek okus) od potencialno toksičnih snovi, npr. alkaloidov, ki so običajno grenki. Ljudje lahko ločimo tudi različne kvalitete sladkega okusa, kar pomeni, da lahko sladek okus še dodatno opišemo. Nabor snovi sladkega okusa je zelo širok. Snovi sladkega okusa so lahko anorganskega, naravnega ali sinteznega izvora in se po kemijski sestavi močno razlikujejo. Nekatere (reprezentativne) snovi sladkega okusa so prikazane v preglednici 1, ki je prirejena po (3, 4).

1.2 Alternativna sladila

Alternativna sladila lahko pomagajo pri uravnavanju telesne teže, nadzoru krvne ravni glukoze in preprečevanju kariesa. Razdelimo jih lahko na poliole in alternativna sladila brez hranilne vrednosti. Sladkorni poliole so derivati sladkorjev in izkazujejo tudi podobno sladkost. Ker se iz črevesja ne absorbirajo v popolnosti, so slabše dostopni kot vir energije. Za razliko od poliolov, alternativna sladila brez hranilne vrednosti praktično ne prispevajo k vnosu energije, saj

Aleš Berlec, mag. farm., Institut Jožef Stefan, Jamova 39, 1000 Ljubljana, Slovenija
prof. dr. Borut Štrukelj, mag. farm., Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana, Slovenija in Institut Jožef Stefan, Jamova 39, 1000 Ljubljana, Slovenija

Proteini sladkega okusa kot alternativna sladila

Preglednica 1: Nekateri snovi sladkega okusa.

Table 1: Some sweet-tasting compounds.

ANORGANSKE NOVI	BeCl ₂ , BeSO ₄ , Pb(OAc) ₂				
NARAVNE ORGANSKE SPOJINE	Ogljikovi hidrati (mono- in disaharidi)	Polioli	D-aminokislina	Proteini sladkega okusa	Produkti sekundarnega metabolizma rastlin
	saharoza glukoza fruktoza maltoza laktoza	sorbitol manitol ksilitol eritritol	glicin alanin (D- in L-) fenilalanin triptofan	brazein taumatin monelin mabinlin mirakulin pentadin kurkulin	steviozid rebaudiozid glicirizin mogrozid V abruzozidi A-D filodulcin neohesperidin dihidrohalon heranandulcin seliguelain
SINTEZNE ORGANSKE SPOJINE	Oksimi	3-nitroanilini		Derivati sladkorjev	
	α-anisaldoksim	6-kloro-3-nitroanilin		sukraloza	
	Sulfamati	Aspartil dipeptidi		Derivati gvanidinoocetne kislina	
	saharin ciklamat acesulfam	aspartam alitam neotam		sukrononska kislina gvanidinoocetna kislina-1 gvanidinoocetna kislina-2	

izkazujejo zelo intenziven sladek okus in jih je zato potrebno dodajati v minimalnih količinah (5).

Pri alternativnih sladilih so pomembne predvsem naslednje lastnosti:

- senzorična kakovost (»čist« sladek okus, brez grenkobe, brez vonja)
- varnost
- kompatibilnost z ostalimi sestavinami hrane
- stabilnost v različnih pogojih uporabe in priprave hrane (npr. termostabilnost)

Od uveljavitve alternativnih sladil so se v medijih pojavljala poročila o potencialnem kancerogenem delovanju, kar je zmanjševalo zaupanje javnosti. Sedaj prevladuje mnenje, da je tveganje za razvoj raka zanemarljivo (6). Alternativna sladila, ki jih odobrijo pristojne regulatorne agencije, so varna. Zanje je opredeljen dovoljen dnevni vnos, varnost pa je potrjena tudi pri večjem vnosu. Vendar pa med regulatornimi agencijami prihaja do nekaterih neskladij, saj so nekatera alternativna sladila v določenih državah dovoljena, v drugih pa prepovedana, kar ne prispeva k večjemu zaupanju javnosti. Ameriška FDA tako dovoljuje uporabo naslednjih sladil brez hranilne vrednosti: acesulfam kalij, aspartam, neotam, saharin in sukraloza (5). V Evropski Uniji pa se lahko uporabljajo: acesulfam kalij (E950), aspartam (E951), sol aspartama-acesulfama (E962), ciklamat (E952), neohesperidin dihidrohalon (E959), saharin (E954), sukraloza (E955) in taumatin (E957) (7). V nadaljevanju so naštet nekatera alternativna sladila, zraven pa opisani nekateri potencialni vplivi na zdravje (5, 8):

- Polioli (sorbitol (E420), manitol (E421), ksilitol (E967), eritritol (E968)): Iz črevesja se absorbirajo počasi in le delno. Imajo

laksativen učinek in pri prekomernem vnosu (50 g/dan sorbitola, 20 g/dan manitola) lahko povzročijo diarejo. Njihova intenziteta sladkega okusa ustreza od 50 do 90 % intenzitete saharoze, kalorična vrednost pa je približno enaka saharozi.

- Acesulfam kalij (E950): Je 200-krat bolj sladek od saharoze. 95 % zaužitega acesulfam kalija se izloči nespremenjenega z urinom.
- Aspartam (E951): Je 160 do 220-krat bolj sladek od saharoze. V črevesju ga esterase razgradijo do asparaginske kisline, metanola in fenilalanina, ki so tudi pogoste sestavine normalne prehrane. Pri segrevanju se razgradi, zato za določene namene uporabe ni primeren. Vnos aspartama je lahko problematičen pri bolnikih s fenilketonurijo.
- Alitam: Je 2000-krat bolj sladek od saharoze in je brez grenkega ali kovinskega okusa. 77 % do 96 % se ga hidrolizira do asparaginske kisline in alanin amida, preostanek pa se izloči v nespremenjeni obliki. Uporaba je dovoljena v Avstraliji in Novi Zelandiji.
- Ciklamat (E952): Je 30-krat bolj sladek od saharoze. Leta 1969 je FDA prepovedala njegovo uporabo, ker naj bi povzročal raka na laboratorijskih podganah (9). Kasnejše študije so ovrgle njegovo karcinogenost (10). Danes je v uporabi v več kot 50 državah, v ZDA pa je še vedno prepovedan.
- Neohesperidin dihidrohalon (E959): Je 1500-krat bolj sladek od saharoze. Hrani in pijači daje likorizen okus (po sladkem korenu). V ZDA je splošno priznan kot varen (status GRAS), vendar le kot sestavina okusa in ne kot sladilo.

Pregledni članki - Review Articles

- Neotam: Je 7000 do 13000-krat bolj sladek od saharoze in ima čist sladek okus brez kovinskega ali grenkega priokusa. Je tudi derivat dipeptida fenilalanina in asparaginske kisline, podobno kot aspartam in alitam. V črevesju se delno absorbira, nato pa hitro metabolizira in izloča z urinom in fecesom. Uporaba je dovoljena v številnih državah po svetu, v EU pa zaenkrat še ne.
- Saharin (E954): Je 200 do 700-krat bolj sladek od saharoze. V ljudeh se ne metabolizira. Kljub nekoliko zmanjšani uporabi je še vedno najpogostejše uporabljeno alternativno sladilo brez hranilne vrednosti in je v uporabi v več kot 100 državah, vključno z EU in ZDA. Leta 1977 je FDA predlagala prepoved njegove uporabe, ker naj bi povzročal raka pri laboratorijskih živalih (11), kar pa je bilo kasneje ovrženo (12).
- Sukraloza (E955): Je 600-krat bolj sladka od saharoze in je disaharidne strukture. Absorbira se je le od 11 % do 27 % in ta se izloči z urinom v nespremenjeni obliki. Je termostabilna in obstojna pri kuhanju in pečenju.
- Steviozid: Je 200 do 300-krat bolj sladek od saharoze. Pridobiva se iz južnoameriške rastline *Stevia rebaudiana*. Njegova uporaba je prepovedana v EU, v ZDA pa se lahko uporablja kot prehranski dodatek. Ugotovljeno je, da metabolit steviozida povzroča maligne spremembe pri živalih, ni pa znano, ali lahko do tega pride tudi pri ljudeh (13).
- Taumatina (E957) in proteini sladkega okusa: Alternativna sladila velike intenzitete in makromolekularne strukture, ki bodo podrobneje predstavljena v nadaljevanju.

2 Proteini sladkega okusa

Proteine sladkega okusa so odkrili v plodovih nekaterih rastlin, ki rastejo v tropskem pasu (Afrika, Kitajska, Malezija). Domačini plodove teh

rastlin uporabljajo za slajenje hrane že stoletja. Danes poznamo šest sladkih in en okus spreminjajoči protein. Proteini sladkega okusa so taumatina, monelina, mabinlina, pentadina, brazeina in kurkulina. Mirakulina je okus spreminjajoči protein. Povzroča, da snovi, ki običajno izzovejo kisel okus (citronska, očetna, askorbinska kislina), okusimo kot sladke (14).

Proteini sladkega okusa so ob primerjavi iste mase od nekaj sto do nekaj tisočkrat bolj sladki od saharoze. Aminokislinska zaporedja šestih proteinov sladkega okusa ne kažejo nobenih značilnih medsebojnih podobnosti. Enako velja tudi za tridimenzionalne strukture proteinov sladkega okusa, ki jih poznamo (taumatina, monelina, brazeina), kar otežuje identifikacijo determinante za sladek okus. So pa nekateri proteini sladkega okusa po aminokislinskem zaporedju podobni proteinom iz drugih skupin, ki niso sladki (npr. obrambnim proteinom), kar kaže na to, da so ti proteini pridobili novo, evolucijsko zaželeno lastnost. Sladek okus plodov namreč privablja živali, ki nato razširjajo njihova semena (14).

Večina proteinov sladkega okusa je termično dokaj obstojna in kemijsko stabilna, kar je posledica disulfidnih vezi, ki omejujejo konformacijske spremembe in porušitev terciarne strukture, ki je nujna za sladek okus. Nekateri proteini sladkega okusa so sestavljeni iz več podenot, kar pa njihovo stabilnost zmanjšuje. Nekatere lastnosti proteinov sladkega okusa so prikazane v preglednici 2 (14–16).

Danes se komercialno uporablja samo taumatina, ki se pridobiva z izolacijo iz rastline *Thaumatococcus daniellii* Benth. Pridobivanje proteinov sladkega okusa z izolacijo iz naravnih virov je lahko zelo kompleksno, saj je potrebno upoštevati, da rastline, v katerih se proteini sladkega okusa nahajajo, ne rodijo plodov izven svojega naravnega okolja. Edino možnost za masovno proizvodnjo proteinov sladkega okusa v količinah, ki bi lahko zadovoljile tržišče, predstavlja rekombinantna DNA tehnologija, ki je v nekaterih primerih že razvita.

Preglednica 2: Primerjava lastnosti proteinov sladkega okusa.
Table 2: Comparison of sweet-tasting proteins characteristics.

Protein sladkega okusa	Taumatina	Monelina	Mabinlina	Pentadina	Brazeina	Kurkulina	Mirakulina
Vir	<i>Thaumatococcus daniellii</i> Benth	<i>Dioscorea ophyllum cumminsii</i> Diels	<i>Capparis masakai</i> Levl	<i>Pentadiplandra brazzeana</i> Baillon	<i>Pentadiplandra brazzeana</i> Baillon	<i>Curculigo latifolia</i>	<i>Rachidella dulcifica</i>
Število aminokislin	207	45 (ver. A) 50 (ver. B)	33 (ver. A) 72 (ver. B)	?	54	114	191
Molekulska masa	22200	10700	12400	12000	6500	24900	98400
Geografska porazdelitev	Zahodna Afrika	Zahodna Afrika	Kitajska	Zahodna Afrika	Zahodna Afrika	Malezija	Zahodna Afrika
Faktor sladkosti (m/m)	3000	3000	100	500	2000	550	-
Aktivna oblika	Monomer	Dimer (A+B)	Dimer (A+B)	?	Monomer	Dimer (A+A)	Tetramer (A+A+A+A)

Proteini sladkega okusa kot alternativna sladila

2.1 Taumatin

Taumatin je najbolje poznan protein sladkega okusa. Izoliran je bil leta 1972 iz zahodnoafriške rastline *Thaumatococcus daniellii* Benth (17). Njegova varnost je bila dokazana na živalih in na ljudeh (18). Taumatin predstavlja družino zelo podobnih proteinov, med katerimi prevladujeta taumatin I (molekulska masa 22209) in taumatin II (molekulska masa 22293). Terciarna struktura taumatina je bila določena. Sestavljata jo dve domeni z maloštevilnimi α -vijačnicami in številnimi β -verigami in β -pasovi (19). Elemente med seboj povezuje 8 disulfidnih vezi. Taumatin nad 70°C agregira (20), kar pa je odvisno od pH (21). Stabilnejši je v kislem okolju. Taumatin je visoko homologen (65%) s proteini družine PR-5, pri čemer je ohranjena postavitve vseh cisteinov. Ti »taumatinu-podobni« proteini so vključeni v obrambnih mehanizmih rastlinskih tkiv pred glivnimi infekcijami. Taumatin je 100000-krat bolj sladek od saharoze na molarni ravni in 3000-krat na masni ravni. Sladek okus nastopi z zakasnitvijo in pušča rahel likorizen pookus.

Taumatin so z različno uspešnostjo izrazili tudi v drugih organizmih: bakterijah (*Escherichia coli* (22), *Bacillus subtilis* (23), *Streptomyces lividans* (24)), glivah (*Saccharomyces cerevisiae* (25), *Kluyveromyces fragilis* (26), *Penicillium roquefortii* (27), *Aspergillus niger* (28), *Pichia pastoris* (29)) in rastlinah (krompir (*Solanum tuberosum*) (30), paradižnik (*Lycopersicon esculentum*) (31)).

2.2 Monelin

Monelin so odkrili v zahodnoafriški rastlini *Dioscoreophyllum cumminsii* Diels. Monelin je 100000-krat bolj sladek od saharoze na molarni ravni in 3000-krat na masni ravni. Protein sestavljata dve nekovalentno povezani polipeptidni verigi: veriga A (45 aminokislin) in veriga B (50 aminokislin). Tridimenzionalno strukturo monelina tvori 5 antiparalelnih β -površin (tri na verigi A, dve na verigi B) in α -vijačnica (na verigi B). V molekuli ni nobene disulfidne vezi (33). Monelin izgubi sladek okus pri inkubaciji na 50°C v kislem pH-ju. Da bi zvečali stabilnost, so pripravili enoverižni analog z združitvijo N-terminalnega konca verige A in C-terminalnega konca verige B, ki sta v strukturi blizu skupaj. Enoverižni monelin je ohranil sladek okus, pridobil pa je večjo pH- in termostabilnost (34).

Monelin so izrazili v bakterijah (*Escherichia coli* (34, 35)), glivah (*Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae* (36)) in rastlinah (paradižnik (*Lycopersicon esculentum*), zelena solata (*Lactuca sativa*) (37)).

2.3 Brazein in pentadin

Leta 1994 so v zahodnoafriški rastlini *Penatadiplandra brazzeana* Baillon odkrili nov protein sladkega okusa in ga po rastlini poimenovali brazein (38). Iz iste rastline so izolirali še en protein sladkega okusa, pentadin (39), za katerega pa domnevajo, da je premrežena, nenaravna oblika brazeina.

Brazein je monomer, molekulo pa sestavlja 54 aminokislinskih preostankov. Molekulska masa brazeina znaša 6473 in je najmanjši do sedaj odkriti protein sladkega okusa. V molekuli je osem cisteinov, ki so med seboj povezani s štirimi disulfidnimi vezmi. Te so odgovorne za visoko termo- in pH-stabilnost molekule (pri inkubaciji na 80 °C za 4 ure ali na 98 °C za 2 uri se ohrani sladek okus) (40). Z določitvijo

tridimenzionalne strukture so ugotovili, da brazein sestavljajo ena α -vijačnica in tri antiparalelne β -površine (41). Brazein je homologen nekaterim obrambnim proteinom (strupi škorpionov, defenzini žuželk, rastlinski γ -tionini).

Brazein je 2000-krat bolj sladek od saharoze na masni ravni. Njegov profil sladkosti je v primerjavi z drugimi proteini sladkega okusa bolj podoben saharoznemu. Glavnina brazeina (80 %), izoliranega iz naravnega vira vsebuje piroglutaminsko kislino (pGlu) na N-terminalnem delu. Preostanek brazeina (20 %) ne vsebuje piroglutaminske kisline (des-pGlu brazein). Ugotovljeno je, da je des-pGlu brazein dvakrat bolj sladek od starševskega proteina. Njegova topnost v vodi znaša 50 mg/ml (več kot 7,7 mol/l) in je med proteini sladkega okusa najboljše topen v vodi.

Na podlagi mutageneze so ugotovili, kateri aminokislinski preostanki odločilno prispevajo k sladkemu okusu. Pri tem so pripravili tudi bolj sladke analoge brazeina (42, 43).

Brazein so uspešno izrazili v bakteriji *E. coli* (44), mlečnokislinski bakteriji *Lactococcus lactis* (45) in koruzi (*Zea mays*) (46).

2.4 Mabinlin

V Kitajski rastlini *Capparis masikai* Levl so leta 1993 odkrili protein sladkega okusa mabinlin (47). V rastlini se nahajajo vsaj štirje proteini iz družine mabinlinov: mabinlin I-1, mabinlin II, mabinlin III in mabinlin IV. Najbolj proučevan je mabinlin II, ki je sestavljen iz dveh polipeptidnih verig (33 in 72 aminokislin), medsebojno povezanih s štirimi disulfidnimi vezmi. Termostabilnost mabinlinov se med seboj precej razlikuje, za kar naj bi bil odgovoren samo en aminokislinski preostanek. Mabinlini so stabilni 1 uro pri 80 °C z izjemo mabinlina I-1, ki pri teh pogojih izgubi sladek okus (48). Mabinlin II pa naj bi ohranil sladek okus celo po inkubaciji na 100 °C za 48 ur. Mabinlin II je visoko homologen skladiščnim proteinom 2S.

Mabinlin je na začetku grenek in adstringenten, sladek okus nastopi z zakasnitvijo. Je 400-krat bolj sladek od saharoze (49).

O rekombinantnem izražanju mabinlina ni poročil.

2.5 Kurkulin

Kurkulin so izolirali iz rastline *Curculigo latifolia*, ki raste v nekaterih predelih Malezije. Med proteini sladkega okusa je svojevrsten posebnost. Poleg sladkega okusa (je 550-krat bolj sladek od saharoze na masni ravni) namreč izkazuje tudi lastnost modificiranja okusa in zato mu lahko rečemo tudi okus spreminjajoči protein. To pomeni, da kisle snovi po ali ob zaužitju kurkulina zaznamo kot sladke (50).

Kurkulin ima molekulska maso 12491 in je sestavljen iz 114 aminokislin. Kurkulin je dimer, sestavljen iz dveh identičnih podenot, ki sta povezani z dvema disulfidnimi vezema. Kurkulin je homologen (65 %) lektinu GNA iz zvončka (*Galanthus nivalis*), na podlagi katerega so naredili model tridimenzionalne strukture (51). Kurkulin je stabilen 1 uro na 50 °C v območju pH od 3 do 11.

Rekombinantno izražanje kurkulina v funkcionalni obliki ni bilo uspešno. Nedavno so odkrili izoobliko kurkulina, ki so jo poimenovali neokulin in je visoko homologna podenoti kurkulina. Ugotovili so, da v *Escherichia coli* nastane funkcionalen protein sladkega okusa samo v

Pregledni članki - Review Articles

obliki heterodimera med podenoto kurkulina in neokulinom (52, 53). Verjetno je, da se protein v tej obliki nahaja tudi v rastlini.

2.6 Mirakulin

Mirakulin je edini predstavnik skupine okus spreminjajočih proteinov. Sam po sebi ni sladek, povzroči pa, da po zaužitju okušamo kisle snovi kot sladke. Odkrili so ga v zahodnoafriški rastlini *Richadella dulcifera*. Mirakulin je glikoprotein iz 191 aminokislin z molekulska maso 24600 (13,9 % predstavljajo ogljikovi hidrati). Sestavljen je iz štirih podenot, ki so med sabo povezane z disulfidnimi vezmi (54, 55).

Mirakulin so pred kratkim izrazili v funkcionalni obliki v rekombinantni zeleni solati (*Lactuca sativa*) (56).

3 Sklep

Sladke jedi ostajajo pomembna sestavina človeške prehrane. Namizni sladkor, ki ga najpogosteje uporabljamo za slajenje, povezujejo z določenimi zdravstvenimi tveganji, najbolj nedvoumno s kariesom. Na pomenu pridobivajo alternativna sladila, ki pa so pogosto umetno pridobljena in jim javno mnenje zato ni naklonjeno. Zanimiv razred alternativnih sladil predstavljajo proteini sladkega okusa, ki so varni in naravnega izvora in bi z rekombinantno proizvodnjo v prihodnosti lahko igrali pomembnejšo vlogo.

4 Literatura

- Lindemann B. Taste reception. *Physiol Rev* 1996; 76: 718-766.
- Lindemann B. Receptors and transduction in taste. *Nature* 2001; 413: 219-225.
- Ellis JW. Overview of Sweeteners. *Journal of Chemical Education* 1995; 72: 671-675.
- Kinghorn AD, Kennelly EJ. Discovery of Highly Sweet Compounds from Natural Sources. *Journal of Chemical Education* 1995; 72: 676-680.
- Position of the American Dietetic Association: use of nutritive and nonnutritive sweeteners. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 255-275.
- Weihrauch MR, Diehl V. Artificial sweeteners--do they bear a carcinogenic risk? *Ann Oncol* 2004; 15: 1460-1465.
- Directive 2003/115/EC of the european parliament and of the council of 22 December 2003 amending Directive 94/35/EC on sweeteners for use in foodstuffs. *Official Journal of the European Union* 2004; L 24: 65-71.
- Ahmed Z, Banu H, Akhter F et al. Concept on Sugar- A Review. *OnLine Journal of Biological Sciences* 2001; 1: 883-894.
- Price JM, Biava CG, Oser BL et al. Bladder tumors in rats fed cyclohexylamine or high doses of a mixture of cyclamate and saccharin. *Science* 1970; 167: 1131-1132.
- Bopp BA, Sonders RC, Kesterson JW. Toxicological aspects of cyclamate and cyclohexylamine. *Crit Rev Toxicol* 1986; 16: 213-306.
- Hicks RM, Chowaniec J. The importance of synergy between weak carcinogens in the induction of bladder cancer in experimental animals and humans. *Cancer Res* 1977; 37: 2943-2949.
- Saccharin. Review of safety issues. Council on Scientific Affairs. *Jama* 1985; 254: 2622-2624.
- Pezzuto JM, Compadre CM, Swanson SM et al. Metabolically activated steviol, the aglycone of stevioside, is mutagenic. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82: 2478-2482.
- Faus I. Recent developments in the characterization and biotechnological production of sweet-tasting proteins. *Appl Microbiol Biotechnol* 2000; 53: 145-151.
- Gibbs BF, Alli I, Mulligan C. Sweet and taste-modifying proteins: A review. *Nutrition Research* 1996; 16: 1619-1630.
- Kant R. Sweet proteins--potential replacement for artificial low calorie sweeteners. *Nutr J* 2005; 4: 5.
- van der Wel H, Loeve K. Isolation and characterization of thaumatin I and II, the sweet-tasting proteins from *Thaumatococcus daniellii* Benth. *Eur J Biochem* 1972; 31: 221-225.
- Higginbotham JD, Snodin DJ, Eaton KK et al. Safety evaluation of thaumatin (Talin protein). *Food Chem Toxicol* 1983; 21: 815-823.
- Ogata CM, Gordon PF, de Vos AM et al. Crystal structure of a sweet tasting protein thaumatin I, at 1.65 Å resolution. *J Mol Biol* 1992; 228: 893-908.
- Kaneko R, Kitabatake N. Heat-induced formation of intermolecular disulfide linkages between thaumatin molecules that do not contain cysteine residues. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 4950-4955.
- Kaneko R, Kitabatake N. Sweetness of sweet protein thaumatin is more thermoresistant under acid conditions than under neutral or alkaline conditions. *Biosci Biotechnol Biochem* 2001; 65: 409-413.
- Edens L, Heslinga L, Klok R et al. Cloning of cDNA encoding the sweet-tasting plant protein thaumatin and its expression in *Escherichia coli*. *Gene* 1982; 18: 1-12.
- Illingworth C, Larson G, Hellekant G. Secretion of the Sweet-Tasting Plant Protein Thaumatin by *Bacillus-Subtilis*. *Biotechnology Letters* 1988; 10: 587-592.
- Illingworth C, Larson G, Hellekant G. Secretion of the Sweet-Tasting Plant Protein Thaumatin by *Streptomyces-Lividans*. *Journal of Industrial Microbiology* 1989; 4: 37-42.
- Lee JH, Weickmann JL, Koduri RK et al. Expression of synthetic thaumatin genes in yeast. *Biochemistry* 1988; 27: 5101-5107.
- Edens L, Vanderwel H. Microbial Synthesis of the Sweet-Tasting Plant Protein Thaumatin. *Trends in Biotechnology* 1985; 3: 61-64.
- Faus I, Patino C, del Rio JL et al. Expression of a synthetic gene encoding the sweet-tasting protein thaumatin in the filamentous fungus *Penicillium roquefortii*. *Biotechnology Letters* 1997; 19: 1185-1191.
- Faus I, del Moral C, Adroer N et al. Secretion of the sweet-tasting protein thaumatin by recombinant strains of *Aspergillus niger* var. awamori. *Applied Microbiology and Biotechnology* 1998; 49: 393-398.
- Masuda T, Tamaki S, Kaneko R et al. Cloning, expression and characterization of recombinant sweet-protein thaumatin II using the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Biotechnol Bioeng* 2004; 85: 761-769.
- Witty M, Harvey WJ. Sensory Evaluation of Transgenic *Solanum-Tuberosum* Producing R-Thaumatin-Ii. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 1990; 18: 77-80.
- Bartoszewski G, Niedziela A, Szwicka M et al. Modification of tomato taste in transgenic plants carrying a thaumatin gene from

Proteini sladkega okusa kot alternativna sladila

- Thaumatococcus daniellii* Benth. Plant Breeding 2003; 122: 347-351.
32. Morris JA, Cagan RH. Purification of monellin, the sweet principle of *Dioscoreophyllum cumminsii*. Biochim Biophys Acta 1972; 261: 114-122.
 33. Ogata C, Hatada M, Tomlinson G et al. Crystal structure of the intensely sweet protein monellin. Nature 1987; 328: 739-742.
 34. Kim SH, Kang CH, Kim R et al. Redesigning a sweet protein: increased stability and renaturability. Protein Eng 1989; 2: 571-575.
 35. Chen Z, Cai H, Lu F et al. High-level Expression of a Synthetic Gene Encoding a Sweet Protein, Monellin, in *Escherichia coli*. Biotechnol Lett 2005; 27: 1745-1749.
 36. Kondo K, Miura Y, Sone H et al. High-level expression of a sweet protein, monellin, in the food yeast *Candida utilis*. Nat Biotechnol 1997; 15: 453-457.
 37. Penarrubia I, Kim R, Giovanoni J et al. Production of the sweet protein monellin in transgenic plants. Biotechnol 1992; 10: 561-564.
 38. Ming D, Hellekant G. Brazzein, a new high-potency thermostable sweet protein from *Pentadiplandra brazzeana* B. FEBS Lett 1994; 355: 106-108.
 39. Vanderwel H, Larson G, Hladik A et al. Isolation and Characterization of Pentadin, the Sweet Principle of *Pentadiplandra-Brazzeana* Baillon. Chemical Senses 1989; 14: 75-79.
 40. Izawa H, Ota M, Kohmura M et al. Synthesis and characterization of the sweet protein brazzein. Biopolymers 1996; 39: 95-101.
 41. Caldwell JE, Abildgaard F, Dzakula Z et al. Solution structure of the thermostable sweet-tasting protein brazzein. Nat Struct Biol 1998; 5: 427-431.
 42. Assadi-Porter FM, Aceti DJ, Markley JL. Sweetness determinant sites of brazzein, a small, heat-stable, sweet-tasting protein. Arch Biochem Biophys 2000; 376: 259-265.
 43. Jin Z, Danilova V, Assadi-Porter FM et al. Critical regions for the sweetness of brazzein. FEBS Lett 2003; 544: 33-37.
 44. Assadi-Porter FM, Aceti DJ, Cheng H et al. Efficient production of recombinant brazzein, a small, heat-stable, sweet-tasting protein of plant origin. Arch Biochem Biophys 2000; 376: 252-258.
 45. Berlec A, Jevnikar Z, Majhenic AC et al. Expression of the sweet-tasting plant protein brazzein in *Escherichia coli* and *Lactococcus lactis*: a path toward sweet lactic acid bacteria. Appl Microbiol Biotechnol 2006.
 46. Lamphear BJ, Barker DK, Brooks CA et al. Expression of the sweet protein brazzein in maize for production of a new commercial sweetener. Plant Biotechnology Journal 2005; 3: 103-114.
 47. Liu X, Maeda S, Hu Z et al. Purification, complete amino acid sequence and structural characterization of the heat-stable sweet protein, mabinlin II. Eur J Biochem 1993; 211: 281-287.
 48. Nirasawa S, Nishino T, Katahira M et al. Structures of heat-stable and unstable homologues of the sweet protein mabinlin. The difference in the heat stability is due to replacement of a single amino acid residue. Eur J Biochem 1994; 223: 989-995.
 49. Guan RJ, Zheng JM, Hu Z et al. Crystallization and preliminary X-ray analysis of the thermostable sweet protein mabinlin II. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 2000; 56 (Pt 7): 918-919.
 50. Yamashita H, Theerasilp S, Aiuchi T et al. Purification and complete amino acid sequence of a new type of sweet protein taste-modifying activity, curculin. J Biol Chem 1990; 265: 15770-15775.
 51. Barre A, Van Damme EJ, Peumans WJ et al. Curculin, a sweet-tasting and taste-modifying protein, is a non-functional mannose-binding lectin. Plant Mol Biol 1997; 33: 691-698.
 52. Shirasuka Y, Nakajima K, Asakura T et al. Neoculin as a new taste-modifying protein occurring in the fruit of *Curculigo latifolia*. Biosci Biotechnol Biochem 2004; 68: 1403-1407.
 53. Suzuki M, Kurimoto E, Nirasawa S et al. Recombinant curculin heterodimer exhibits taste-modifying and sweet-tasting activities. FEBS Lett 2004; 573: 135-138.
 54. Theerasilp S, Hitotsuya H, Nakajo S et al. Complete amino acid sequence and structure characterization of the taste-modifying protein, miraculin. J Biol Chem 1989; 264: 6655-6659.
 55. Theerasilp S, Kurihara Y. Complete purification and characterization of the taste-modifying protein, miraculin, from miracle fruit. J Biol Chem 1988; 263: 11536-11539.
 56. Sun HJ, Cui ML, Ma B et al. Functional expression of the taste-modifying protein, miraculin, in transgenic lettuce. FEBS Lett 2006; 580: 620-626.

Primerjava pogojev v prebavnem traktu med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi s stališča ciljane dostave v kolon

Comparison of gastrointestinal conditions of human and laboratory animals from the colon delivery viewpoint

Polona Smrdel, Marija Bogataj, Aleš Mrhar

Povzetek: Ciljana dostava učinkovine v kolon se v zadnjem obdobju zelo intenzivno raziskuje tako z namenom lokalnega zdravljenja različnih bolezni debelega črevesa kot tudi za sistemsko dostavo učinkovine. Vsi danes poznani pristopi izkoriščajo značilnosti prebavnega trakta, ki omogočajo dostavo učinkovine v kolon. Tako govorimo o pH-, časovno-, encimsko- in tlačno nadzorovanih sistemih. S tega vidika je poznavanje pogojev prebavnega trakta ključnega pomena tako za načrtovanje dostavnih sistemov kot tudi za razvoj *in vitro* modela za vrednotenje tovrstnih sistemov. Tako kot nove učinkovine tudi nove farmacevtske oblike v predklinični fazi preskusimo na različnih laboratorijskih živalih, zato je poznavanje gastrointestinalnih pogojev pri laboratorijskih živalih enakovrednega pomena poznavanju pogojev pri človeku. Namen članka je primerjati pogoje prebavnega trakta med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi z vidika načrtovanja sistemov za dostavo učinkovine v kolon.

Ključne besede: ciljana dostava v kolon, pogoji v prebavnem traktu, medvrstne razlike, živalski model

Abstract: Colon delivery has received a significant interest in recent years for local treatment of various large bowel diseases as well as for systemic delivery of drugs. All known approaches exploit gastrointestinal conditions, which enable colon delivery. Colon delivery systems could be classified into pH-, time-, enzyme- and pressure- controlled systems. From this point of view, the understanding of gastrointestinal conditions is of crucial importance for design as well as for *in vitro* evaluation of these systems. In preclinical trials, all new drugs as well as new dosage forms are tested in different animal models. For this purpose, it is necessary to be familiar with gastrointestinal conditions in animals and in humans. The aim of this article is therefore to compare the gastrointestinal conditions between human and different laboratory animals from the colon delivery point of view.

Key words: colon delivery, gastrointestinal conditions, interspecies differences, animal model

1 Uvod

Ciljana dostava učinkovine na želeno mesto ima vrsto prednosti pred farmacevtskimi oblikami z nenadzorovanim sproščanjem, saj omogoča doseganje terapevtske koncentracije učinkovine na želenem mestu z bistveno manjšimi odmerki in posledično zmanjša neželene učinke povezane s sistemsko dostavo učinkovine.

S tega stališča predstavlja lokalna dostava učinkovine v kolon učinkovitejši način zdravljenja različnih bolezni debelega črevesja kot so kronični iritabilni kolitis, Chronova bolezen, ulcerativni kolitis, novotvorbe debelega črevesja, infekcije debelega črevesja, in druge.

Dostava učinkovine v kolon je prav tako dobrodošla, ko je s terapevtskega vidika zaželena zakasnjena absorpcija učinkovine. Tak primer so bolezni, ki so vezane na cirkadiani ritem in imajo najmočnejše izražene simptome zgodaj zjutraj, npr. nočna astma, angina pectoris ali artritis (1, 2). Obenem pa zaradi nizke proteolitične aktivnosti peptidaz in pankreatičnih encimov debelo črevo v primerjavi s tankim predstavlja boljšo možnost tudi za dostavo in absorpcijo peptidnih in proteinskih molekul. Poleg tega je z daljšim časom zadrževanja učinkovine v debelem črevesu na razpolago več časa za absorpcijo učinkovin, vse to pa lahko pomembno prispeva k večji biološki uporabnosti (1 - 4).

Polona Smrdel, mag. farm., Katedra za biofarmacijo s farmakokinetiko, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana in Lek d.d., Verovškova 57, 1526 Ljubljana
izr. prof. dr. Marija Bogataj, mag. farm., Katedra za biofarmacijo s farmakokinetiko, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana
prof. dr. Aleš Mrhar, mag. farm., Katedra za biofarmacijo s farmakokinetiko, Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

Primerjava pogojev v prebavnem traktu med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi

Dostavo učinkovin v kolon lahko dosežemo tako s peroralno kot tudi z rektalno aplikacijo, vendar ima slednja več pomanjkljivosti. Glavna omejitev rektalnih farmacevtskih oblik je omejena distribucija le teh po debelem črevesju in posledično učinkovina le redko ali pa sploh ne doseže proksimalnega dela kolona. Poleg tega je rektalna aplikacija pacientu bistveno manj sprejemljiva v primerjavi s peroralno (1, 2). Prav zato je razvoj sistemov za dostavo učinkovine v kolon usmerjen v oblike za peroralno aplikacijo, ki pa morajo za uspešno dostavo učinkovine premagati vrsto ovir pred prihodom v kolon.

Danes je poznanih več pristopov izdelave sistemov za dostavo učinkovine v kolon, ki na različne načine preprečijo absorpcijo in/ali razpad učinkovine v zgornjih predelih gastrointestinalnega (GI) trakta ter omogočajo njeno dostavo v debelo črevo. Tehnologije izkoriščajo lastnosti prebavnega trakta kot so spreminjanje pH vzdolž prebavnega trakta, zahtevan čas potovanja skozi prebavni trakt do debelega črevesa, specifična bakterijska mikroflora v kolonu ali višji pritisk zaradi peristaltičnih valov, ki sprožijo sproščanje učinkovine v debelem črevesu. Tako govorimo o sistemih, katerih sproščanje učinkovine je pH-, časovno-, encimsko- ali s pritiskom- nadzorovano (5).

Glede na to, da sistemi za dostavo učinkovine v kolon temeljijo na specifičnih lastnostih prebavnega trakta, je potrebno za njihov razvoj natančno poznavanje in razumevanje tako anatomskih kot fizioloških pogojev v prebavnem traktu. Enakovredno poznavanju pogojev v človeškem prebavnem traktu je tudi poznavanje GI pogojev pri laboratorijskih živalih, na katerih testiramo farmacevtske oblike v predklinični fazi, saj le izbira primerne živalskega modela omogoča ekstrapolacijo tako pridobljenih informacij na človeka (2, 6, 7). Poleg tega je temeljito poznavanje GI pogojev poglobitvega pomena za razvoj *in vitro* testa raztapljanja, na osnovi katerega sklepamo o *in vivo* obnašanju farmacevtske oblike. Za dobro napoved *in vitro/in vivo* korelacije mora *in vitro* test raztapljanja čim bolj posnemati *in vivo* pogoje v prebavnem traktu, kar v primeru *in vitro* vrednotenja sistemov za dostavo učinkovine v kolon pomeni čim bolj posnemati *in vivo* pogoje v smislu pH, bakterij, tipa encimov, encimske aktivnosti, volumna tekočine in intenzitete mešanja (5).

S tem namenom so v članku predstavljene temeljne lastnosti prebavnega trakta človeka in nekaterih laboratorijskih živali, na katere moramo biti pozorni tako pri načrtovanju kot tudi vrednotenju sistemov za dostavo učinkovin v kolon. To so pH, čas prehoda skozi prebavni trakt in bakterijska mikroflora.

2 pH vzdolž prebavnega trakta

pH tekočin v prebavnem traktu ima ključen pomen pri raztapljanju, topnosti in absorpciji ionizirajočih učinkovin (6), vpliva pa tudi na obnašanje zlasti tistih farmacevtskih oblik, ki so pripravljene iz pH občutljivih sestavin. pH vrednosti različnih predelov prebavnega trakta pri človeku in eksperimentalnih živalih so zbrane v preglednici 1. Kot je razvidno iz preglednice so že pri posamezni vrsti pH vrednosti podane v nekem intervalu, kar nakazuje variabilnost znotraj vrste, velika variabilnost pa je tudi pri posamezniku.

Kljub variabilnosti je pri vseh vrstah opazna podobna dinamika sprememb pH vzdolž prebavnega trakta. Želodec je tako pri človeku kot pri živalih najbolj kisel predel prebavnega trakta. Na območje pH v želodcu ima zelo pomemben vpliv zaužita hrana, ki nevtralizira

želodčno kislino in posledično povzroči dvig pH-ja (8). Prav omenjen porast pH-ja spodbudi intenzivnejše izločanje želodčnih sokov, ki postopoma povrnejo pH želodca na vrednost pred hranjenjem. Čeprav so pH vrednosti na tešče primerljive, se vpliv hrane na pH v želodcu med vrstami precej razlikuje (preglednica 1). Pri ljudeh zaužitje hrane povzroči hiter dvig pH na vrednosti od 3 do 7 (2). Podobno je pri prašičih in opicah, medtem ko je pri psih vpliv hrane bistveno manjši, saj se pH v želodcu v prvi uri po zaužitju hrane ne spremeni izrazito. K temu naj bi prispevala intenziteta sekrecije želodčne kisline. Psi imajo v primerjavi s človekom, prašičem in opico zelo nizko bazalno sekrecijo, po stimulaciji (hrana, histamin) pa se ta hitro in občutno poveča (in celo preseže človeško, prašičjo in opičjo) ter prepreči dvig pH. Večje spremembe želodčnega pH so pri psu opazne ob praznjenju želodca, saj lahko predvsem zaradi duodenalnega refluksa pH naraste celo na vrednosti 6 oziroma 7 (8). Zaradi nizke bazalne sekrecije v stanju, ko v želodcu ni več prisotne hrane, lahko tako visoke vrednosti pH v želodcu ostanejo tudi več ur, vse do naslednjega migracijskega mioelektričnega kompleksa (7 - 9).

Pri podganah zelo težko govorimo o vrednostih pH na tešče, ker podgane s še nekaterimi glodalci spadajo med ti. »kontinuirane jedce«, in zato njihov želodec ni praktično nikoli prazen. Poleg tega so koprofagi, kar pomeni, da si z zaužitim fecesem priskrbijo dodatne encime, ki jim omogočajo prebavo celuloze in absorpcijo esencialnih hranil in vitaminov iz rastlinskega materiala (8). Prav zato je pH vrednost podganjega želodca višja v primerjavi s človekom. Če bi želeli izvajati poskus na podganah popolnoma na tešče, bi poleg odtujitve hrane morali preprečiti tudi dostop do lastnega fecesa.

Poleg hrane pa na vrednost želodčnega pH vplivajo tudi drugi dejavniki, med katerimi je zelo pomemben stres. Za eksperimentalne živali zagotovo predstavlja vsak poskus stresno situacijo. Tako je znano, da se pri Old World opicah, kamor spada tudi družina makakov (Rhesus in Cynomolgus opice), želodčna sekrecija drastično zmanjša oz. skoraj ustavi, če so le ti priprti (v kletkah). Ustavi se tudi motiliteta prebavnega trakta. Posledično je lahko pH želodca nevtralen ali celo rahlo alkalen. Nasprotno pa se s priprtjem New World opic želodčna sekrecija zelo poveča (9).

pH želodca je zlasti pomemben pri preskušanju gastrozistentnih farmacevtskih oblik in vse zgoraj naštetje razlike dokazujejo, da je za ustrezno razumevanje in vrednotenje rezultatov potrebno zelo dobro poznati živalski model in pogoje, pri katerih farmacevtsko obliko preskušamo.

Največja sprememba pH vzdolž prebavnega trakta je opazna na prehodu iz želodca v tanko črevo – v duodenumu, kjer pankreatični sok bogat z encimi in bikarbonatnimi ioni nevtralizira želodčno kislino. Pankreatična sekrecija je pri človeku, psu, prašiču in opici podobna (9), za podgano v literaturi nismo našli podatkov. Na splošno pH vzdolž tankega črevesja pri vseh vrstah postopno narašča do ileocekalnega dela, kjer je opazen padec pH (preglednica 1). Na tešče je pri psu in prašiču pH tankega črevesa približno za 1 pH enoto višji, medtem ko je po hranjenju predvsem v duodenumu pH bolj kisel kot pri človeku (7, 9).

V začetnem delu debelega črevesja pH pri vseh vrstah pade zaradi prisotnih kratkoveržnih maščobnih kislin, ki nastanejo ob fermentaciji polisaharidov (10). Do rektuma pH postopoma naraste približno do 7.

Pregledni članki - Review Articles

Preglednica 1: pH vrednosti prebavnega trakta človeka in nekaterih laboratorijskih živali.

Table 1: pH of gastrointestinal tract of human and some laboratory animals

		Človek	Podgana	Pes	Prašič	Opica
Želodec	Na tešče	1,5–2,0 ^(2, 9) 1,5–3,5 ⁽⁶⁾ 1,4–2,1 ⁽⁷⁾	*4–4,3 ⁽⁶⁾	0,9–2,4 ⁽⁹⁾	2,7 ⁽⁷⁾ 1,6–1,8 ⁽⁷⁾ 3,75–4 ⁽⁷⁾ 0,8–3 ⁽⁶⁾	°1–3 ⁽²⁵⁾
	Po hrani	3,0–7,0 ⁽²⁾ 5,0 ⁽²⁰⁾ 4,3–5,4 ⁽⁷⁾	3,8–5 ⁽¹⁸⁾ *3,1–5 ⁽⁶⁾ #2,3–4,5 ⁽⁶⁾	2,1 ^(7, 9)	2,6–6 ⁽⁷⁾ 1,3–3 ⁽⁷⁾	°5–7 ⁽²⁵⁾
	ND		3,3–5 ^(6, 8)		2,2–4,3 ⁽⁶⁾	2,8–4,8 ⁽⁶⁾
Tanko črevo	ND*		6,2–7,5 ⁽⁸⁾	6,0–7,5 ⁽⁸⁾	+7–9 ⁽⁷⁾ +5,5–6 ⁽⁷⁾	
	Duodenum	Na tešče	4,9–6,5 ⁽²⁾ 5–7 ⁽⁶⁾ 5,4 ⁽²⁰⁾	*7,1 ⁽⁶⁾	4,5–7,5 ⁽⁸⁾ 5–7,6 ⁽²⁴⁾	7,2 ^(7, 8)
		Po hrani	5,0–5,6 ⁽²⁾	*6,9 ⁽⁶⁾ #6,9 ⁽⁶⁾	2,5 ⁽²⁴⁾ 5,5–7,2 ⁽²⁴⁾	3–4 ⁽⁷⁾
		ND		6,5 ^(6, 21)	6,0 ⁽⁶⁾	5,6 ⁽⁶⁾
	Jejunum	Na tešče	4,4–6,5 ⁽²⁾ 6–7 ⁽⁶⁾	*8 ⁽⁶⁾	6,2–7,3 ⁽²⁴⁾	
		Po hrani	5,2–6,2 ⁽²⁾	*7,4 ⁽⁶⁾ #7,8 ⁽⁶⁾		
		ND		6,7–6,8 ⁽⁶⁾	6,6–6,8 ⁽⁶⁾ 6,2–6,9 ⁽⁶⁾	5,8–6,0 ⁽⁶⁾
	Ileum	Na tešče	6,5–8,0 ⁽²⁾ 7,5 ⁽²⁰⁾ 7 ⁽⁶⁾	*8 ⁽⁶⁾	6,6–7,9 ⁽²⁴⁾	
		Po hrani	6,8–8,0 ⁽²⁾	*7,4 ⁽⁶⁾ #7,8 ⁽⁶⁾		
		ND		7,1 ^(6, 23)	7,5 ⁽⁶⁾	6,0 ⁽⁶⁾
	Cekum	Na tešče	*7,2 ⁽⁶⁾	6,4 ⁽⁸⁾	6,3 ⁽⁸⁾	
		Po hrani	*6,4 ⁽⁶⁾ #6,7 ⁽⁶⁾			
		ND	6,0 ⁽²³⁾ 5,9 ⁽²³⁾	6,6 ⁽²³⁾ 6,3 ⁽⁶⁾	6,4 ^(6, 8) 6,3 ⁽⁶⁾	5,0 ⁽⁶⁾
Debelo črevo	Kolon	Na tešče	*7,6 ⁽⁶⁾	6,5 ⁽⁸⁾	6,8 ⁽⁸⁾	
		Po hrani	*6,8 ⁽⁶⁾ #7,1 ⁽⁶⁾			
		ND	6(proks) ⁽⁷⁾ 7,5 (dist) ⁽⁷⁾ 5,5–7 ^(6, 8) 7,5 ⁽²⁰⁾	6,6 ^(6, 23) 7,1 ⁽⁸⁾	6,5 ⁽⁶⁾ 6,8 ⁽⁶⁾	5,5 ⁽⁶⁾

ND – stanje glede hrane ni opredeljeno, ND* - segment tankega črevesa ni opredeljen, *Lister hooded podgane, #Wistar podgane, +Rhesus opica, °Cynomolgous opica

Znano je, da se lahko pH debelega črevesa zelo spremeni zlasti v bolezenskih stanjih. Tak primer je vnetna črevesna bolezen, kjer se pri človeku pH kolona spusti na 4,7, ali celo še nižje in sicer na 2,3 do 3,4 (11, 12).

Naraščanje pH proti koncu tankega črevesa izkoriščajo sistemi za dostavo učinkovine v kolon, pripravljeni iz polimerov, ki se raztapljajo

pri nekoliko višjih vrednostih pH kot običajni gastrerezistentni polimeri. Prav zaradi variabilnosti pH je zanesljivost dostave učinkovine v kolon s pH odvisnimi sistemi negotova, saj učinkovine pogosto ne dostavijo na želeno mesto, ker se le ta bodisi prehitro ali pa se sploh ne sprosti in se farmacevtska oblika s še vsebujočo učinkovino izloči iz organizma. Kljub temu so pH-odvisni sistemi za dostavo učinkovin v

Primerjava pogojev v prebavnem traktu med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi

kolon trenutno na tržišču najbolj zastopani predvsem zaradi enostavne tehnologije in širokega nabora pH občutljivih polimerov (1).

3 Čas prehoda

Čas prehoda skozi prebavni trakt oz. do želenega mesta v prebavnem traktu je drugi dejavnik, ki ga izkoriščamo z namenom ciljane dostave. Farmaceutske oblike za aplikacijo v kolon s časovno pogojenim sproščanjem so načrtovane in pripravljene tako, da začnejo sproščati učinkovino po določenem času (1). Za razliko od pH-nadzorovanih sistemov, pripravljenih iz sestavin, ki se raztopijo pri določenem pH, so časovno nadzorovani sistemi za aplikacijo v kolon pripravljeni iz polimerov, ki neodvisno od pH nabrekajo, erodirajo ali se raztopijo po v naprej določenem času. Zelo znan primer farmacevtske oblike s časovno nadzorovanim sproščanjem je Pulsincap™, sestavljen iz nepermeabilne kapsule zaprte s čepom iz hidrofilnega polimera, ki v stiku z vodnim medijem nabreka in po izstopu iz kapsule omogoči sprostitve učinkovine. Začetek sproščanja učinkovine je mogoče spreminjati z dolžino čepa (1, 2). V primeru, ko tovrstne polimere uporabimo za oblaganje farmacevtskih oblik, je začetek sproščanja učinkovine pogojen z debelino obloge.

Podatkov o časih prehodov skozi prebavni trakt predvsem laboratorijskih živali je v literaturi relativno malo, zbrani so v preglednici 2. Tako kot pri pH vrednostih je tudi pri časih prehodov opazna velika intra- in inter-individualna variabilnost in sicer predvsem na račun spremenljivega prehoda skozi želodec.

Pri vseh obravnavanih živalskih vrstah ločimo gibanje želodca na tešče in ob prisotnosti hrane. Izjema so glodalci (podgane, zajci), ki zaradi svojih prehranjevalnih navad nimajo praktično nikoli praznega želodca (8).

V teščem stanju je motiliteta želodca pri človeku sestavljena iz štirih faz, ki se periodično ponavljajo približno vsaki dve uri. V tretji fazi migracijskega mioelektričnega kompleksa (MMC), ki po različnih virih traja od 4 do 6 minut (10), od 5 do 15 (13, 14) oz. $18,6 \pm 4$ minute (9), je intenziteta kontrakcij želodca največja. V tej fazi se iz želodca izloči neprebavljena želodčna vsebina (10). Človeku primerljiv način in periodiko gibanja želodca na tešče imajo tudi psi, prašiči in opice (7). Bistveno hitrejšo periodiko MMC (vsakih 20 minut) pa so zasledili pri teščajih podganah (15).

Zaužitje hrane ali tekočine z zadostno kalorično vrednostjo prekine MMC in želodec preide v gibanje z močnimi toničnimi kontrakcijami, ki vsebino med mešanjem z želodčnimi sekreti drobijo in potiskajo proti pilorusu (9).

Prav zaradi izrazitega vpliva na način gibanja želodca je hrana tisti dejavnik, ki v največji meri pogojuje čas prehoda farmacevtskih oblik skozi želodec. Če farmacevtsko obliko apliciramo s hrano, bo čas, ki je potreben, da se ta izloči iz želodca, odvisen od njene velikosti. Manjši delci se izločijo s hrano, večji delci pa šele s tretjo fazo MMC, ko želodec ponovno preide v način gibanja na tešče (10). Velikost delcev, ki lahko prehaja v duodenum s hrano, je odvisna od velikosti oz. premera pilorusnega sfinktra pri posamezni živalski vrsti (6). Literarni podatki o vplivu hrane na prehod majhni delcev skozi želodec se precej razlikujejo. Nekateri avtorji navajajo, da se lahko čas prehoda majhnih delcev kot so pelete skozi želodec s hrano pri

človeku in živalih manj upočasni kot večjim delcem, kjer velja da večji kot so delci, daljši je čas praznjenja iz želodca (8, 9). Potemtakem naj bi z uporabo majhnih večnotnih farmacevtskih oblik zmanjšali variabilnost povezano s praznjenjem želodca (14). Davis s sodelavci je ugotovil, da se po zaužitju pelet z lahkim obrokom (1000–2000 kJ) le te po kratki zakasnitvi izločajo iz želodca z linearno kinetiko (16, 17). Rezultati drugih poskusov pa nakazujejo, da je lahko izločanje pelet apliciranih s hrano, zlasti visoko kaloričnim obrokom (16, 18), izrazito zadržano in da se te izločijo šele s prvim valom MMC (14). Čas, da se želodec po obroku vrne v stanje na tešče (MMC), je tako pri človeku kot pri psu sorazmeren s kalorično vrednostjo obroka, vendar je vpliv hrane na podaljšanje časa zadrževanja v želodcu pri psu bistveno bolj izrazit (preglednica 2, (9)).

Poleg velikosti farmacevtske oblike je pri prehodu skozi želodec pomemben dejavnik tudi gostota, saj je bilo pri ljudeh ugotovljeno, da se težki delci (npr. $2,8 \text{ g/cm}^3$) izločajo počasneje v primerjavi z delci, ki imajo gostoto primerljivo želodčni vsebini (npr. $1,5 \text{ g/cm}^3$) (19).

Za razliko od človeka in psa, kjer po obroku praznjenje želodca poteka kontinuirano, je pri prašiču praznjenje želodca bimodalno, kar pomeni, da se približno 30 – 40% vsebine izprazni v prvih 15 minutah, približno čez eno uro pa sledi počasno praznjenje preostale vsebine. Zelo pogosto se želodec pri prašiču ne izprazni popolnoma in hrana ostaja v želodcu celo 24 ur. Prav zato svetujejo praznjenje prašičjega želodca pred poskusom, da si zagotovimo tešče pogoje (7). Podatki o opicah so zelo redki, glede na rezultate poskusov Konda in sodelavcev pa je hitrost praznjenja tekočine iz želodca pri Cynomolgus opicah primerljiva s človekom (20).

Z namenom čim bolj zmanjšati vpliv hitrosti praznjenja želodca na mesto začetka sproščanja učinkovine iz sistemov s časovno pogojenim sproščanjem ima danes večina tovrstnih sistemov gastrozistentno oblogo. Le ta ščiti sistem v želodcu in se hitro raztopi v tankem črevesu ter odkrije notranjo oblogo, ki zadrži sproščanje za določen čas, zahtevan za prihod farmacevtske oblike na želeno mesto. Prav zato so sistemi s kombinacijo pH- in časovno kontroliranega sproščanja bistveno bolj predvidljivi v smislu dostave učinkovine na želeno mesto v primerjavi s samo časovno kontroliranimi sistemi. Čas prehoda skozi tanko črevo pri ljudeh je namreč veliko bolj konstanten v primerjavi z želodcem in je neodvisen od prisotnosti/odsotnosti hrane ter velikosti in oblike dostavnega sistema (2, 9). Hitrost praznjenja želodca, ki je pogojena s kalorično vrednostjo obroka, ne vpliva na hitrost potovanja skozi tanko črevo, temveč vpliva na distribucijo večnotnih farmacevtskih oblik. In sicer, v primeru zaužitja večnotnega dostavnega sistema z obrokom višje kalorične vrednosti, se želodec prazni počasneje in zato se pelete razširijo po tankem črevesu v večji meri kot če jih zaužijemo z lahkim obrokom, ki se iz želodca izloči hitreje (10).

Razlike v času prehoda skozi črevo med človekom in laboratorijskimi živalmi so vsaj deloma povezane z različnimi anatomskimi razmerji med dolžino telesa in dolžino črevesa (21). Tako je na primer čas prehoda skozi tanko črevo pri psu in Cynomolgus opicah približno polovico krajši v primerjavi s človekom, medtem ko lahko pri prašiču pričakujemo daljši čas prehoda, glede na to da ima skoraj trikrat daljše tanko črevo kot človek (7, 9, 20). Hitrost potovanja vzdolž tankega črevesa se pri človeku zmanjša s $4,7 \pm 1,8 \text{ cm/min}$ na $0,9 \pm$

Pregledni članki - Review Articles

Preglednica 2: Čas prehoda (h) skozi posamezne predele prebavnega trakta pri človeku in nekaterih laboratorijskih živalih

Table 2: Gastrointestinal transit times (h) of human and some laboratory animals

			Človek	Podgana	Pes	Prašič	Opica		
Želodec (h)	Na tešče	Delci	^a 0,45 – 2,9 ⁽¹⁴⁾ ² ⁽²¹⁾ ^a 3,1 ± 2,1 (1,45 – 7,95) ⁽¹⁹⁾ ^b ² ⁽¹⁸⁾		² ⁽²¹⁾	>6 ⁽²¹⁾ ^{1,5} ⁽²¹⁾ ^a 10 ⁽⁶⁾ ^a 2,2 ⁽²⁷⁾			
			Tablete, kapsule	0,5– 2,2 ⁽¹⁴⁾ ² ⁽²¹⁾ 1,2 ± 0,4 (7x20mm) ⁽²⁴⁾ 1,3 ± 0,3 ⁽⁹⁾		1,5 ⁽²¹⁾ 1,2 ± 0,8 (7x20mm) ⁽²⁴⁾ 1,2 ± 0,5 ⁽⁹⁾	>6 ⁽²¹⁾ 1,5 - 6 ⁽²⁷⁾		
				^a Tekočina	0,17– 0,5 ⁽²⁰⁾ 0,2 ⁽²⁴⁾			² ⁽⁶⁾ 1,3 – 1,6 ⁽²⁷⁾	°0,36± 0,14 ⁽²⁰⁾ (20 ml) °0,45± 0,3 ⁽²⁰⁾ (60 ml)
					Po hrani	Delci	1 – 4 (1mm) ⁽⁹⁾ 4,25 ± 0,75 (900kcal, 0,7 – 1,2 mm pelete) ⁽⁹⁾ ^a 2 (60g zrezek, 30 g jeter) ⁽⁹⁾ ^a 2,3 – 5,6 (>2000kJ) ⁽¹⁴⁾ ^a 1,2 – 5,8 (<2000kJ) ⁽¹⁴⁾ ^b 4 - 12 (5000kJ) ⁽¹⁸⁾ ^a 1,3 ± 0,14 (1500kJ) ⁽¹⁶⁾ ^a 2,83 ± 0,16 (3600kJ) ⁽¹⁶⁾	^a 0,7 – 2,1 ⁽²⁶⁾	^a 3 (60g zrezek, 30 g jeter) ⁽⁹⁾
		Tablete	3 - >12 (14 mm) ⁽⁹⁾ 1,1 – 13 (<2000kJ) ⁽¹⁴⁾ 2,1 – 10,2 (>2000kJ) ⁽¹⁴⁾						
		ND	1,3 ⁽²³⁾		1,5 ⁽²³⁾				
	Tanko črevo (h)	Na tešče	Delci	3 - 4 ^(1, 6) ⁴ ⁽⁵⁾ 2,7 – 9,2 ⁽⁶⁾			^a 3 - 4 ⁽²⁷⁾		
				Tablete	4 ± 0,25 ⁽⁹⁾		2 ± 0,25 ⁽⁹⁾	3 - 4 ⁽²⁷⁾	
					Tekočina	4 ⁽¹⁰⁾		^a 3 - 4 ⁽²⁷⁾	°2,5 (1,5 – 6) ⁽²⁰⁾
					Po hrani	Delci	3 (0,7 – 1,2 mm pelete) ⁽⁹⁾ ^{4,5} ⁽⁹⁾ ^{<3} ⁽⁹⁾	^a 2,6 – 3,3 ⁽²⁶⁾	
		Tablete							
		Tekočina							
ND			4 ⁽²³⁾ 3 - 4 ⁽³⁾	1,5 ⁽²⁶⁾ 4 - 5 ⁽³⁾	2 ⁽²³⁾ 0,5 - 2 ⁽⁸⁾	6-10 ⁽²⁸⁾			
		Debelo črevo (h)	Cekum		^a 1,9– 0,9 ⁽²⁶⁾				
			Kolon	20 – 30 ⁽²⁾ 10 – 78 ⁽³⁾ 6,2 – 54,7 ⁽⁸⁾	6,0 – 7,2 ⁽⁸⁾				
Celotni GIT (h)				39,2 ⁽²³⁾ 15 – 25 ⁽⁷⁾		12,8 ⁽²³⁾	17 – 50 ⁽⁷⁾ 12 – 24 (stari 4 tedne) ⁽⁷⁾ 35 (stari 10 tednov) ⁽⁷⁾	+38,6–55,6 ⁽²⁹⁾	
			Delci	46 ⁽²¹⁾	29 ⁽²¹⁾	23 ⁽²¹⁾	48 ⁽²¹⁾ 24 – 48 ⁽²⁷⁾		
			Tekočina				39 ⁽²¹⁾		

ND – pogoji določanja časa prehoda (hrana, aplicirana oblika) niso definirani, ⁺Rhesus opica, [°]Cynomolgus opica, ^at_{50%} - čas, ko se izloči 50% delcev, ^bčas, ko je večina delcev še v želodcu

Primerjava pogojev v prebavnem traktu med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi

0,2 cm/min v terminalnem ileumu (10). Podoben gradient v hitrosti potovanja skozi tanko črevo so opazili tudi pri podganah (6).

Prehod vsebine iz tankega v debelo črevo nadzoruje ileocekalni sfinkter, ki preprečuje vstop vsebine tankega črevesa v kolon pred zaključkom absorpcije in onemogoča vračanje kolonske vsebine v tanko črevo. Prav zato se večerotne farmacevtske oblike pred vstopom v kolon ponovno združijo in skozi kolon potujejo skupaj (kot bolus). Raziskave na ljudeh so pokazale, da ileocekalni sfinkter za razliko od pilorusnega ne razlikuje med velikostjo farmacevtskih oblik (10).

Čas zadrževanja v debelem črevesu je glede na celokupen čas prehoda skozi prebavni trakt pri vseh živalskih vrstah najdaljši. Raziskave so pokazale, da večje farmacevtske oblike skozi debelo črevo potujejo hitreje kot majhne (2). Prav dolg čas zadrževanja in nizka proteolitična aktivnost sta poglaviti lastnosti debelega črevesa, ki naj bi omogočili boljšo biološko uporabnost učinkovinam z ustreznimi fizikalno-kemijskimi lastnostmi za absorpcijo v kolonu kljub temu, da ima debelo črevo bistveno manjšo absorptivno površino v primerjavi s tankim črevesom in da je difuzija molekul otežena zaradi zelo goste vsebine (2, 4). Tudi za učinkovine z lokalnim delovanjem dolg čas zadrževanja učinkovine na mestu delovanja prispeva k boljši učinkovitosti.

Medvrstne razlike v času prehoda skozi debelo črevo so pogojene z načinom prehranjevanja oz. z različnimi razmerji v velikosti posameznih predelov prebavnega trakta, ki so evolucijska posledica različnih prehranjevalnih navad. Tako je na primer pri rastlinojedcih cekum večji in je zato čas prehoda skozenj bistveno daljši kot pri mesojedcih, kjer je cekum zelo majhen in pri prebavi nima pomembne vloge (6, 7). Poleg tega imajo glodalci v kolonu posebne anatomsko izražene gube, ki omogočajo transport črevesne vsebine, dušika in živih bakterij iz kolona nazaj v cekum, kar dodatno pripomore k metabolizmu v cekumu (cekotrofija). Tak retrograden transport lahko pomembno prispeva k podaljšanju časa potovanja skozi prebavni trakt in s tem k večji biološki uporabnosti predvsem počasi absorbirajočih učinkovin (3). Na drugi strani pa se lahko zaradi krajšega časa potovanja skozi debelo črevo psa farmacevtska oblika namenjena človeku izloči nerazpadla.

Kljub dokaj konstantnemu času prehoda skozi tanko črevo je uporaba časovno odvisnih sistemov za ciljano dostavo v kolon omejena predvsem zaradi velike variabilnosti praznjenja želodca in nezmožnosti prilagajanja individualnim časom prehodov. Učinkovina se namreč iz sistema začne sproščati po nekem v naprej določenem času ne glede na to ali v tem času farmacevtska oblika prispe v kolon ali ne (1).

4 Bakterijska mikroflora

Tretji fiziološki dejavnik, ki se zlasti v zadnjem času intenzivno raziskuje za razvoj sistemov s ciljano dostavo v kolon, je bakterijska mikroflora v prebavnem traktu. Bolj natančno, tovrstni sistemi izkoriščajo anaerobne bakterije, specifično prisotne le v debelem črevesju. Te bakterije izločajo vrsto encimov, ki lahko fermentirajo različne endogene in eksogene substrate z azo- in glikozidnimi vezmi, med katerimi najdemo vrsto naravnih di-, oligo- in polisaharidov. Ta značilnost človeškega debelega črevesa ponuja možnost uporabe različnih na tem mestu biorazgradljivih polimerov (polisaharidov) ter

azo- in glukuronil konjugatov za tvorbo predzdravil, kot polimere za oblaganje jedrnega materiala ali kot nosilne ogrodne sisteme, ki specifično dostavijo učinkovino v kolon (1 - 3).

Mikroflora v prebavnem traktu človeka je kompleksen ekosistem, sestavljen iz več kot 400 vrst anaerobnih in aerobnih bakterij. Pomemben vpliv na porazdelitev bakterij vzdolž prebavnega trakta ima tudi pH. Tako je pri človeku v želodcu, duodenumu, jejunumu in zgornjem ileumu le malo bakterij. Nasprotno je pri podgani, ki je koprofag in ima v želodcu višji pH, v zgornjem delu prebavnega trakta prisotnih veliko več bakterij (3, 8).

Tako pri človeku kot tudi pri laboratorijskih živalih je v debelem črevesu bakterijska mikroflora najobilnejša v celotnem prebavnem traktu in se med vrstami bistveno ne razlikuje. Prevladujejo anaerobne bakterije, med katerimi so najštevilčnejše *Bacteroides*, *Lactobacillus* in *Bifidobacteria*, *Clostridium* pa se nahajajo le pri mesojedcih (8).

Kar se tiče bakterijskih encimov v debelem črevesju, pomembnih za razgradnjo različnih polisaharidov, med človekom in laboratorijskimi živalmi ni večjih razlik. Dodatno je za presnovo polisaharidov poleg bakterijske populacije zelo pomemben tudi čas zadrževanja polisaharida na mestu, kjer poteka fermentacija (20), ki pa se med živalskimi vrstami zelo razlikuje.

Nikakor pa ne smemo zanemariti medvrstnih razlik v aktivnosti nekaterih encimov v preostalih predelih prebavnega trakta. Tak primer je α -glikozidaza, ki je pri podgani v proksimalnem delu tankega črevesa kar 36000-krat, v distalnem delu pa 4000-krat aktivnejša v primerjavi s človekom. To je zlasti pomembno pri preskušanju glikozidnih predzdravil, saj bo pri podgani potekla hidroliza že v tankem črevesju, medtem ko lahko pri človeku pričakujemo, da bo večina nehidroliziranega predzdravila prišla v cekum oz. kolon. Podobno kot pri podganah je tudi pri miših, medtem ko je aktivnost α -glikozidaze pri zajcih in morskih prašičkih primerljiva s človekom. Nasprotno je encim azoreduktaza, ki je odgovorna za sprostitve učinkovine vezane na nosilec z azo vezjo, tako pri podgani kot človeku aktivna le v debelem črevesju (3).

Encimsko nadzorovanim sistemom daje prav specifična razgradnja večjo zanesljivost za uspešno dostavo učinkovine v kolon v primerjavi s pH in časovno odvisnimi sistemi. Glavna pomanjkljivost v kolonu razgradljivih polimerov je ta, da so to v večini hidrofilni polisaharidi, ki sami po sebi ne uspejo zadržati sproščanja učinkovine do kolona. Zato so potrebne dodatne obloge ali kemijske modifikacije polimerov, ki pa pogosto vodijo k manjši biorazgradljivosti polimera. Poleg tega se moramo zavedati, da lahko tudi pri encimsko nadzorovanih sistemih za dostavo v kolon pričakujemo določeno variabilnost med posamezniki, saj je aktivnost bakterijske mikroflora močno pogojena s starostjo, bolezenskim stanjem (aktivnost azoreduktaz in glikozidaz je pri Chronovih bolnikih manjša), uživanjem antibiotikov ter tudi prehrano, pogostnostjo defeciranja, in drugim (2, 8, 12).

5 Zaključek

Ciljana dostava učinkovine v kolon omogoča lokalno zdravljenje bolezni debelega črevesa, lahko pa prispeva tudi k učinkovitejši sistemski terapiji. V literaturi so podatki o tem, katere farmacevtske oblike za ciljano dostavo v kolon so že na tržišču in kakšen je njihov mehanizem doseganja ciljane dostave, redki. Na tržišču so registrirane farmacevtske oblike s pH-nadzorovanim sproščanjem,

Pregledni članki - Review Articles

pripravljene iz gastrozestistentnih polimerov, ki se raztopijo pri višjih pH vrednostih od običajnih gastrozestistentnih polimerov, in naj bi omogočali sproščanje učinkovine na koncu tankega črevesa (1, 2, 12). V primerjavi s sistemi s pH nadzorovanim sproščanjem, katerih mehanizem, ki sproži sproščanje učinkovine, ne izkorišča specifične lastnosti debelega črevesa, so prednostni dostavni sistemi, ki vsebujejo tudi polisaharide, razgradljive z encimi bakterijske mikroflore v kolonu, vendar na tržišču še niso dostopni (1). Že dalj časa pa so v uporabi predzdravila, iz katerih se lahko farmakološko aktivni del učinkovine sprostijo le s pomočjo encimov bakterijske mikroflore prisotne v debelem črevesu.

Pri razvoju farmacevtske oblike je vsekakor ključnega pomena izbira ustreznega živalskega modela. V članku zbrani podatki nakazujejo, da se laboratorijske živali precej razlikujejo po fizioloških lastnostih v prebavnem traktu. Seveda izbira živalskega modela pogojuje tudi anatomske razlike, saj je že velikost farmacevtske oblike tisti parameter, ki lahko skrči nabor primernih laboratorijskih živali. Tako na primer večjih tablet ali kapsul ne moremo preskušati na majhnih laboratorijskih živalih kot so miši, podgane ali zajci, ker je peroralna aplikacija otežena oz. nemogoča, v primeru intragastralne aplikacije takih farmacevtskih oblik pa je zelo spremenjeno ali pa celo zavrtlo potovanje farmacevtske oblike vzdolž prebavnega trakta. Tako se na primer 11 mm tableta, aplicirana zajcu, iz želodca v 24 urah sploh ne izloči (7).

Izbira živalskega modela, ki bi popolnoma posnemal človeka, je pravzaprav nemogoča, vendar nam je kljub temu lahko dobro poznavanje medvrstnih razlik in podobnosti prebavnega trakta v veliko pomoč tako pri načrtovanju izdelave dostavnega sistema in razvijanju *in vitro* modela za preskušanje farmacevtske oblike kot tudi pri izbiri *in vivo* modela in vrednotenju rezultatov poskusa.

6 Literatura

- Basit W. Advances in colonic drug delivery. *Drugs* 2005; 65 (14): 1991–2007.
- Van den Mooter G. Colon drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv* 2006; 3 (1): 111–125.
- Friend DR. Colon-specific drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1991; 7: 149–99.
- Mrsny RJ. The colon as site for drug delivery. *J Control Release* 1992; 22: 15–34.
- Yang L, Chu JS, Fix JA. Colon-specific drug delivery: new approach and *in vitro/in vivo* evaluation. *Int J Pharm* 2002; 235: 1–15.
- Kararli TT. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharm Drug Dispos* 1995; 16: 351–380.
- Dressman JB, Yamada K. Animal models for oral drug absorption. In Welling P, Tse FL. *Pharmaceutical bioequivalence*. Marcel Dekker, 1991: 235–266.
- De Zwart LL, Rompelberg CJM, Sips AJAM et al. Anatomical and physiological differences between various species used in studies on the pharmacokinetics and toxicology of xenobiotics. RIVM report 1999.
- Dressman JB. Comparison of canine and human gastrointestinal physiology. *Pharm Res* 1986; 3 (3), 123–131.
- Wilding I. Site-specific drug delivery in the gastrointestinal tract. *Crit Rev Ther Drug Carr Syst* 2000; 17 (6):557–620.
- Shimono N, Takatori T, Ueda M et al. Chitosan dispersed system for colon-specific drug delivery. *Int J Pharm* 2002; 245: 45–54.
- Friend DR. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 57: 247–265.
- Shargel L, Wu-Pong S, Yu ABC. Physiologic factors related to drug absorption. In *Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics* 5th edition. Mc Graw Hill Companies, Inc., 2005: 371–409.
- Follonier N, Doelker E. Biopharmaceutical comparison of oral multiple-unit and single-unit sustained-release dosage forms. *S T P Pharma Sciences* 1992; 2 (2): 141–158.
- Smits GJM, Lefebvre RA. Influence of aging on gastric emptying of liquids, small intestine transit, and fecal output in rats. *Experim Gerontol* 1996; 31 (5): 589–596.
- Davis SS, Khosla R, Wilson CG et al. Gastrointestinal transit of a controlled-release pellet formulation of tiaprofenic acid and the effect of food. *Int J Pharm* 1987; 35: 253–258.
- Wilding IR, Coupe AJ, Davis SS. The role of α -scintigraphy in oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 46: 103–124.
- Marvola M, Kannikoski A, Aito H et al. The effect of food on gastrointestinal transit and drug absorption of a multiparticular sustained-release verapamil formulation. *Int J Pharm* 1989; 53: 145–155.
- Clarke GM, Newton JM, Short MB. Comparative gastrointestinal transit of pellet systems of varying density. *Int J Pharm* 1995; 114: 1–11.
- Kondo H, Takahashi Y, Watanabe T et al. Gastrointestinal transit of liquids in unfed Cynomolgus monkeys. *Biopharm Drug Dispos* 2003; 24: 131–140.
- Martinez M, Amidon G, Clarke L et al. Applying the biopharmaceutics classification system to veterinary pharmaceutical products Part II. Physiological considerations. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54: 825–850.
- Sunvold GD, Hussein HS, Fahey GC et al. *In vitro* fermentation of cellulose, beet pulp, citrus pulp and citrus pectin using fecal inoculum from cats, dogs, horses, humans and pigs and ruminal fluid from cattle. *J Anim Sci* 1995; 73: 3639–3648.
- Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res* 1993; 10: 1093–1095.
- Sutton SC. Companion animal physiology and dosage form performance. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1383–1398.
- Kondo H, Takahashi Y, Nakashima H et al. Characteristics of the gastric pH profiles of unfed and fed Cynomolgus monkeys as pharmaceutical product development subjects. *Biopharm Drug Dispos* 2003; 24: 45–51.
- Tuleu C, Andrieux C, Boy P et al. Gastrointestinal transit of pellets in rats: effect of size and density. *Int J Pharm* 1999; 180: 123–131.
- Davis SS, Illum L, Hindcliff M. Gastrointestinal transit of dosage forms in the pig. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53: 33–39.
- Forenbacher S. Klinička fiziologija želuca i crijeva. In Topolnik E. *Klinička patologija probave i mijene tvari domaćih životinja, Svezak d, Klinička patologija probave i resorpcije*. Jugoslavenska akademija znanosti i umjetnosti, 1980: 15–57.
- Rabot S, Viso M, Martin F et al. Effect of chair restraint on gastrointestinal transit time and colonic fermentation in male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Med Primatol* 1997; 26: 190–195.

Normativne lekarniške knjige na Slovenskem skozi stoletja

Standard pharmaceutical books in Slovenia during centuries

Pavle Jović

Povzetek: Prispevek skuša prikazati normativne lekarniške knjige, ki so bile v uporabi na Slovenskem od 15. do 20. stoletja. Moralna in etična načela pri izdelovanju zdravil so veljala na Slovenskem najbrž že od 15. stoletja, kar dokazujejo prve tiskane normativne knjige o zdravilih, ki so ohranjene v samostanskih knjižnicah Slovenije (Antidotarium Salernitanum 1479; Antidotarium Mesuea, 1479; Compendium aromatariorum, 1488). Od polovice 16. stoletja do začetka 18. stoletja so lekarnarji na Slovenskem uporabljali nürnbergski, augsburški in dunajski dispensatorij, ki so bili vzor poznejšim farmakopejam. Od konca 18. stoletja, pa čez celo 19. stoletje do leta 1926 so se morali slovenski lekarnarji ravnati po avstrijskih farmakopejah. Po nastanku Jugoslavije je tudi za Slovenijo od 1926. leta veljala druga izdaja Srbske farmakopeje iz leta 1908. Leta 1933 so Slovenci prevzeli Prvo jugoslovansko farmakopejo, ki je bila veljavna v Sloveniji od 1935 do 1951. Na Slovenskem sta do konca 20. stoletja v veljavi še dve izdaji jugoslovanske farmakopeje (1972, 1985). Po pridobitvi samostojnosti je Slovenija leta 1997 prevzela tretjo izdajo Evropske farmakopeje. Zdaj je v Sloveniji v veljavi peta izdaja Evropske farmakopeje.

Ključne besede: zdravila, lekarniške knjige, dispensatorij, farmakopeja

Abstract – The article presents review of standard pharmaceutical books which were used in Slovenia from 15th to 20th centuries. Moral and ethical principles in production of medicaments in Slovenia were used probably from the end of the 15th century when the first standard pharmaceutical books appeared (Antidotarium Salernitanum, 1471; Antidotarium Mesue, 1479; Compendium aromatariorum, 1488). From the middle of the 16th to the beginning of the 18th centuries in Slovenia were applied official German dispensaries. The first official pharmacopoeia in German empire and also in Slovenia was the Dispensatorium Norimbergense issued in 1546. It was followed by the Dispensatorium Augsburgense (1564), Pharmacopoea Augustana (1597) and Dispensatorium Pharmaceuticum Viennense (1729). Throughout whole the 19th century Slovenian pharmacists were obliged the Austrian pharmacopoeias. After the establishment of Kingdom Yugoslavia, from 1926 to 1951 in Slovenia was in force second edition of Serbian Pharmacopoeia, which was based on the sixteenth edition of Svedian pharmacopoea from 1901. In 1997 Slovenia accepted the third edition of European pharmacopoeia. Now is in Slovenia in force fifth edition of European pharmacopoeia.

Key words: medicinals, standards, dispensory, pharmacopoeia

Uvod

Načelo pomagati in ne poškodovati (*Primum non nocere*) je osnovni princip, ki ga je postavil že v starem veku oče medicine Hipokrat (Hipokrates, 460-377 pr. n.š.).

V antični dobi, skoraj štiri stoletja pozneje, je grški vojaški zdravnik Pedanius Dioskurides (20-79 po n. š.) izvršil prvo večjo sistematizacijo zdravil, sestavil je obsežno delo - *De materia medica*, ki je bilo več kot 15 stoletij standardna knjiga o zdravilih.

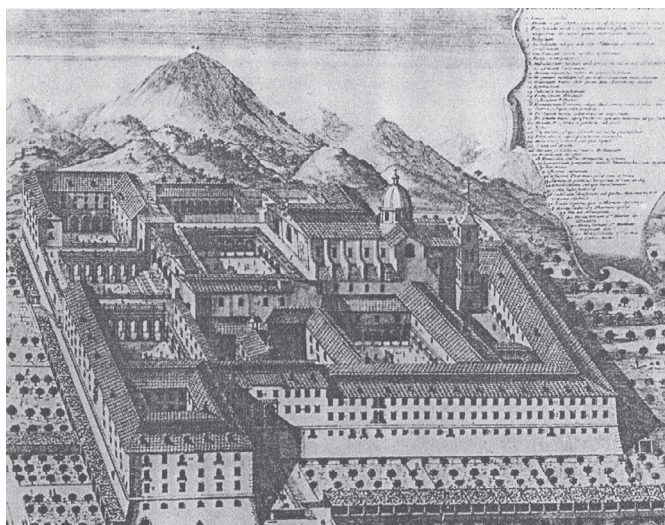
Razvoj lekarništva v Evropi že v srednjem veku priča o skrbi za kakovostno izdelavo zdravil v skladu s ustreznimi normami (1, 2).

Začetek lekarništva na Slovenskem se je že od poznega srednjega veka navezoval na kulturne tokove iz sosednjih dežel, Italije in Nemčije, ki sta bili vodilni na področju farmacije v tedanji Evropi. Bližina Italije, v kateri se je začela evropska farmacija, je bila odločilna za zgodnji razvoj lekarništva na slovenskem ozemlju.

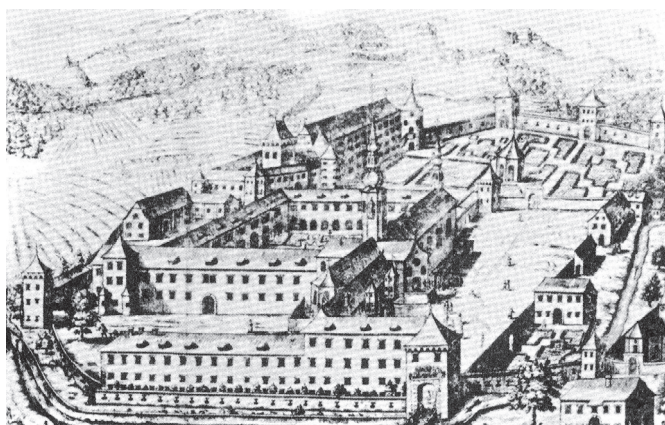
V Italiji sta bila v 6. stoletju ustanovljena prvi samostan in lekarna v Evropi (Monte Cassino, leta 529) (slika 1).

V 7. stoletju so menihi ustanovili tudi prvo bolnišnico v Salernu, v 9. stoletju pa je v istem mestu začela s poukom prva medicinska šola v Evropi (Schola Medica Salernitana), ki ni imela cerkvenega značaja, čeprav je začetek te šole v zvezi s prvim samostanom v Evropi – Monte Cassino (3). Tudi tu se je uveljavilo Hipokratovo načelo: Ne uporabljati škodljivih zdravil. V tem času je v Salernu izšla tudi najstarejša evropska lekarniška knjiga, tako imenovani Salernitanski antidotarij - Antidotarium Salernitanum (4). To je bil prvi poskus, da se določijo standardi za zdravila. Salernitanski antidotarij je sestavil zdravnik ugledne Salernitanske medicinske šole – Nikolaj in se po njem imenuje še antidotarij Nikolaja (Antidotarium Nicolai). Salernitanski antidotarij je bil zelo uporabljana lekarniška knjiga v Evropi, ki je nastala po antičnih virih in po arabskem vzoru (slika 3). To delo je postalo podlaga in vzor vsem poznejšim evropskim farmakopejam (5).

Pregledni članki - Review Articles



Slika 1. Benediktinski samostan Monte Cassino
Figure 1. Benedictine monastery of Monte Cassino

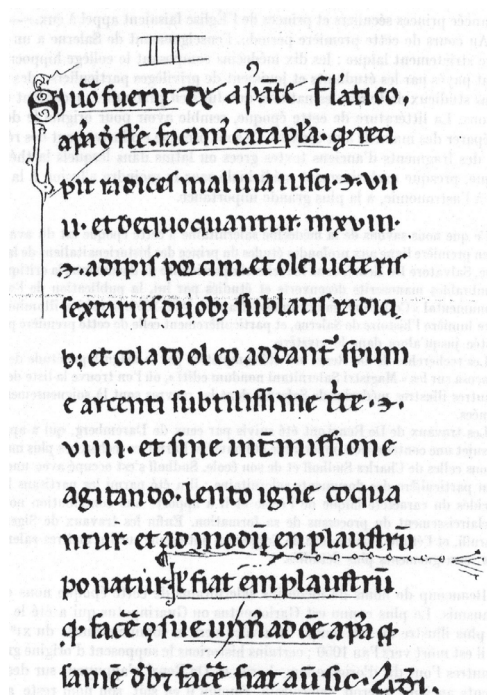


Slika 2. Cistercijski samostan v Stični
Figure 2. Cistercian monastery of Stična

V Italiji so bile v 12. stoletju ustanovljene prve javne lekarne v Evropi (Neapelj, 1140). Eno stoletje pozneje, leta 1224, je edikt nemškega cesarja Friderika II Hohenstaufena opredelil, da se morajo lekarnariji pri izdelovanju zdravil ravnati po predpisih omenjenega antidotarija (6).

Srednji vek

Slovensko ozemlje je prišlo pod nemške vladarje v desetem stoletju. V slabo naseljenih krajih Slovenije so menihi ustanovili prve samostane, ki so odigrali veliko vlogo v gospodarskem in kulturnem življenju tistega časa, zlasti cistercijski (Stična na Dolenjskem, Vetrin pri Celovcu), kartuzijanski (Žiže na Štajerskem) in benediktinski (Admont na avstrijskem Štajerskem). V 11. stoletju je na tedanjem še pretežno slovenskem etničnem ozemlju na Koroškem nastalo 8 benediktinskih samostanov. Prvi samostan, ustanovljen na ozemlju današnje Slovenije, je bil stiški samostan na Dolenjskem (1136), ki je imel svojo lekarno (7) (slika 2). V mnogih samostanih so bile



Slika 3. Antidotarij Nikolaja salernitanskega (rokopisna knjiga)
Figure 3. Antidotary of Nicholas of Salerno (manuscript)

znamenite rokopisne šole, kjer so nastajale tudi lekarniške knjige (8). Rokopisne in tiskane knjige, ki so ohranjene v samostanskih knjižnicah kažejo, da so se menihi zanimali za lekarništvo in da so pripravljali zdravila po predpisih lekarniških knjig tistega časa (9).

Novi vek

15. stoletje

Petnajsto stoletje na slovenskem kulturnem področju pomeni prehod iz srednjega v novi vek. Preko Slovenije je tekla živahna trgovina med avstrijskimi, češkimi in ogrskimi deželami ter Italijo (10), ki je v slovenske dežele v drugi polovici 15. in v začetku 16. stoletja prinašala kulturne vplive iz teh dežel pa tudi renesančne in humanistične ideje. Okoli leta 1456, ko je Johannes Gutenberg (1398-1468) iznašel knjigotisk s premičnimi črkami, so začeli v Nemčiji in zatem v Italiji dotedanje rokopisne knjige nadomeščati s tiskanimi knjigami. Med prvimi tiskanimi medicinskimi knjigami so bile normative lekarniške knjige (11). Leta 1488 je bil natisnjen Compendium aromatariorum, prva knjiga, v kateri je salernitanski zdravnik Saladinus Asculanus podal tudi etične zahteve pri izdelovanju zdravil.

Prve tiskane normative knjige o zdravilih, ki so ohranjene v samostanskih knjižnicah Slovenije, dokazujejo da so bile v uporabi na tem ozemlju, kakor drugod po srednji Evropi. Italijanska farmacija je bila vodilna v Evropi v času, ki ga zgodovina imenuje renesansa in humanizem. Italija je bila poleg nemških dežel največje središče tiskarske dejavnosti.

Normativne lekarniške knjige na slovenskem skozi stoletja

Že omenjena rokopisna knjiga (Salernitanski antidotarij) je bila natisnjena v Benetkah leta 1471 (prvonatis). V slovenskih knjižnicah je ohranjen poznejši ponatis tega dela (1479).

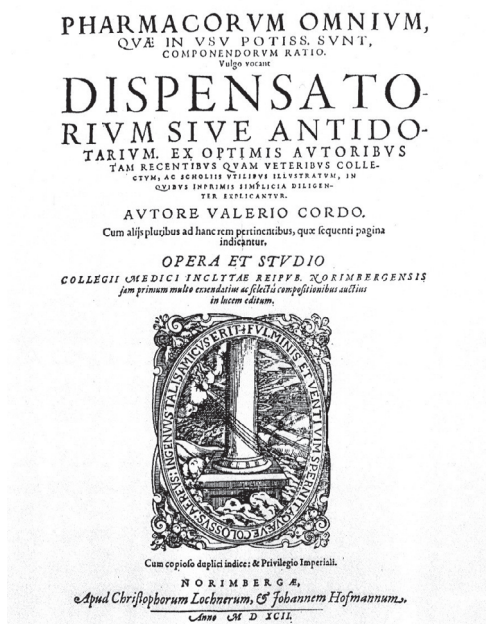
Še ena srednjeveška normativna knjiga o zdravilih z naslovom Grabadin medicamentorum compositorum ali Antidotarium Mesuea, ki je temeljila na arabskem znanju o zdravilih, je ohranjena v Sloveniji. Omenjene antidotarije je tedaj priporočal tudi Stainpeiss, večkratni dekan medicinske fakultete na Dunaju (12). Za Slovence sta pomembna, ker so iz njih zajemali tudi poznejši dispenzatoriji, ki so bili v uporabi po slovenskih krajih.

Prva javna lekarna na Dunaju se omenja od leta 1405, prvi poskus da se tam uveljavi enotni dispenzatorij je bil izveden leta 1433. Avstrija, ki je bila pomemben del nemškega cesarstva do leta 1806, ni imela svoje lastne normativne knjige o zdravilih do leta 1602, kot uradne lekarniške knjige so avstrijski lekarnarji uporabljali nemške dispenzatorije.

16. stoletje

Čas od konca 15. do konca 16. stoletja je na Slovenskem čas velikih kmečkih uporov, turških vpadov, nastanka novih mest, čas humanizma in protestantske reformacije, ki ima za razvoj slovenskega naroda odločilen pomen. Protireformacija je v avstrijskih deželah pa tudi v Sloveniji zmagala. Nastopila je 150-letna doba katoliške obnove in vladarjevega političnega absolutizma. V političnem in narodno-kulturnem pogledu je ta doba za Slovence pomenila določen zastoj in celo nazadovanje, toda takrat so slovenski lekarnarji dobili prve uradne lekarniške knjige.

Že na začetku 16. stoletja (1518) so zastopniki plemstva in meščanstva alpskih dežel (tudi Kranjci, Štajerci in Korošci) na zboru v Innsbrucku predlagali, da naj se lekarnarje nadzorujejo (13). Leta 1530 so kranjski stanovni sklenili, da je dolžnost zdravnika, da nadzoruje delo v lekarnah.

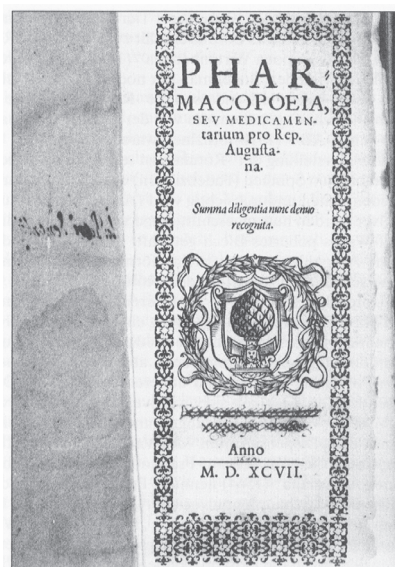


Slika 4. Dispensatorium Valerii Cordi iz leta 1592
Figure 4. Dispensatory of Valerius Cordus from 1592

V mestu Nürnberg, ki je bilo središče renesanse in humanizma na Nemškem, je magistrat leta 1546 izdal prvi srednjeevropski dispenzatorij, zbirko predpisov za izdelavo zdravil z naslovom Pharmacorum omnium ali Dispensatorium Norimbergense, po kateri so se morali lekarnarji ravnati v mnogih evropskih mestih in deželah. Tako se je odpravilo za bolnika škodljivo pripravljavanje zdravil v različnih lekarnah istega mesta po različnih predpisih (14). Predpise o zdravilih je zbral mlad in nadarjen medicinec Valerius Cordus (1515-1544). Njegovo delo-nürnberški dispenzatorij se še imenuje Dispensatorium Valerii Cordi. Dispenzatorij je izšel drugič leta 1592 (slika 4) in zadnjič 1666 (15).

Leta 1564 je magistrat še enega mesta v južni Nemčiji, Augsburga, izdal svoj dispenzatorij (Dispensatorium Augsburgense), ki se od leta 1597 imenuje Pharmacopoea Augustana (16, 17) (slika 5).

Prizadevanje za enotni dispenzatorij v Avstriji v letih 1438 in 1454 je bilo neuspešno: medicinska fakulteta na Dunaju se je za njegovo izdelavo



Slika 5. Pharmacopoea Augustana iz leta 1597
Slika 5. Pharmacopoeia of Augsburg from 1597

odločila šele leta 1566. Dispenzatorij je bil dokončan 1570 (18), vendar je leta 1602 izšel v tiskani obliki pod naslovom – Dispensatorium pro pharmacopoeis viennensibus. Ta tiskana lekarniška knjiga je bila veljavna samo do leta 1618, ker je Augsburška farmakopeja (Pharmacopoea Augustana), ponatis iz 1613, postala uradna lekarniška knjiga tudi za Avstrijo in njene province (prav tako za Slovenijo).

17. stoletje

Na slovenskem ozemlju sta v drugi polovici 16. stoletja, kakor tudi v 17. stoletju veljala nürnberški in augsburški dispenzatorij. Verjetno so slovenski zdravniki proti sredini 17. stoletja že dajali prednost Augsburškemu dispenzatoriju ker je v tem stoletju izhajal bolj pogosto kot nürnberški in je potrebam lekarnarjev bolj ustrezal (19). Pharmacopoea Augustana je v 17. stoletju izšla trikrat (1640, 1648, 1694).

Pregledni članki - Review Articles

Na Štajerskem srečamo leta 1660 tudi predpis, naj delajo lekarnariji zdravila po predpisih Augsburskega dispenczatorija iz leta 1597. Sedemnajsto stoletje je po zmagi nad Turki (Dunaj, 1683) prineslo slovenskim krajem nov gospodarski in kulturni vzpon. Univerzalnost lekarniškega dela v tedanji Evropi dokazuje razširjena uporaba omenjenih uradnih knjig za izdelavo zdravil.

18. stoletje

Prvo desetletje 18. stoletja je bila Habsburška monarhija, za katero se je v uradnih dokumentih leta 1711 uvedlo ime Avstrijska monarhija, zapletena v dve izčrpavajoči vojni, zato dolgo ni izšla niti ena uradna farmakopeja. Lekarnariji so še naprej uporabljali augsburško farmakopejo. V 18. stoletju je Pharmacopoea Augustana izšla dvakrat, 1710 in zadnjič 1734. Do leta 1737 so bile veljavne vse izdaje augsburške farmakopeje.

Za časa Marije Terezije so pričeli z rednim vsakoletnim nadzorovanjem lekarn. V tem času je imel vlogo farmakopeje tudi Lekarnarski red za Vojvodino Kranjsko (Apotheker Ordnung), ki je izšel v Ljubljani v 1710. V kranjskem lekarniškem redu so bila zbrana posebna pravila za lekarnarje, določena pa je bila tudi taksa.

Leta 1729 je izšel Dunajski dispenczatorij (Dispensatorium pharmaceuticum austriaco-viennense (20, 21), ki je od leta 1737 stopil v veljavo v avstrijskih deželah. Do leta 1770 je bilo natisnjeno šest izdaj. V tem dispenczatoriju najdemo iste farmacevtske oblike, kakor v kranjskih lekarniških predpisih iz leta 1710.

Leta 1774 je izšla Avstrijska provincialna farmakopeja (Österreichische Provinzial Pharmacopoe), po kateri so se morali ravnati vsi lekarnariji na večini slovenskega ozemlja (slika 6). Provinzial v tem nazivu pomeni, da je Avstrija bila ena iz provinc Svetega rimskega cesarstva nemške narodnosti.

19. stoletje

Na prelomu 18. v 19. stoletje so tudi slovenske dežele občutile napoleonske vojne. Napoleon je združil nekatere slovenske in hrvaške

pokrajine in ustanovil Ilirske province 1809. Francozi v Ilirskih provincih niso uvedli ne francoske ustave pa tudi ne Francoske farmakopeje.

Nekaj let po ukinitvi Svetega rimskega cesarstva (1806) je Avstrija izdala svojo prvo nacionalno farmakopejo leta 1812 (Pharmacopoea austriaca editio prima). Do konca 19. stoletja je izšlo še sedem izdaj avstrijske farmakopeje (1816, 1820, 1834, 1836, 1855, 1869, 1889), po katerih so se morali ravnati tudi lekarnariji v slovenskih krajih.

Leta 1836 je izšel Zirkular des Illyrischen Guberniums (okrožnica ilirskega gubernija) v katerem piše: Vsi lekarnariji, tudi zdravniki in ranocelniki, ki imajo hišno lekarno, se morajo od 1. novembra 1836 držati nove, popravljene farmakopeje (Pharmacopoea austriaca editio quarta, 1834).

20. stoletje

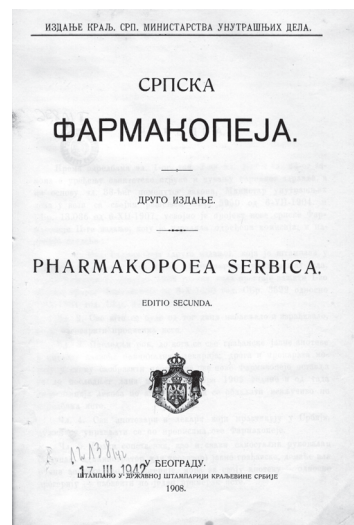
Ker v habsburški monarhiji programa za zedinjeno Slovenijo niso mogli uresničiti, so Slovenci to monarhijo zapustili, upajoč ta cilj uresničiti v skupni državi s Srbi in Hrvati. Na začetku 20. stoletja je v Avstriji izšla osma izdaja Avstrijske farmakopeje (1906), ki je bila tudi veljavna na Slovenskem do leta 1926. Po ustanovitvi Kraljevine Srbov, Hrvatov in Slovencev 1. decembra 1918, je Slovenija leta 1926 prevzela drugo izdajo Srbske farmakopeje iz leta 1908 (22, 23). Pharmacopoea serbica editio secunda (slika 7) je temeljila na osmi izdaji švedske farmakopeje iz leta 1901 (Pharmacopoea suecica editio octava).

Druga izdaja Srbske farmakopeje iz leta 1908 je bila osnova za prvo Jugoslovansko farmakopejo, ki jo je Slovenija prevzela 1933 (24). Po ustanovitvi Kraljevine Jugoslavije je sprejet predlog, da jugoslovanska farmakopeja izide v treh jezikih, tudi v slovenščini, toda se to ni uresničilo (25). Prva jugoslovanska farmakopeja je stopila v veljavo 1. januarja 1935 (slika 8).

Leta 1951 je v Sloveniji stopila v veljavo druga izdaja Jugoslovanske farmakopeje, ki je bila veljavna do 1972. Svojo prvo farmakopejo v

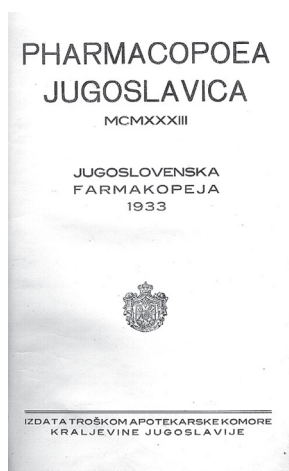


Slika 6. Avstrijska provincialna farmakopeja iz leta 1790
Figure 6. Pharmacopoeia austriaco-provincialis from 1790



Slika 7. Pharmacopoea serbica editio secunda iz 1908
Figure 7. Pharmacopoeia serbica second edition from 1908

Normativne lekarniške knjige na slovenskem skozi stoletja



Slika 8. Prva jugoslovanska farmakopeja
Figure 8. The first yougoslav pharmacopoeia

lastnem jeziku so Slovenci dobili pred tremi desetletji, leta 1972, ko je izšla tretja izdaja Jugoslovanske farmakopeje (Pharmacopoea jugoslavica editio tertia, transliteratio slovenica, 1972). Leta 1985 je izšla še ena izdaja Jugoslovanske farmakopeje, ki je bila veljavna na Slovenskem do 1997.

Leta 1991 po pridobitvi državne samostojnosti je Republika Slovenija zapustila Jugoslavijo in se je začela razvijati v svojem prvotnem inkulturacijskem okolju v zahodnoevropskem krogu, ki ga predstavlja Evropska unija. Ekonomsko in politično povezovanje nekaterih zahodnih držav je združilo tudi njihove napore pri nadziranju izdelave in prometa z zdravili. Leta 1964 je izšla prva izdaja Evropske farmakopeje. Slovenija je prevzela tretjo izdajo Evropske farmakopeje (European Pharmacopoeia, third edition, 1997), ki je s prvim januarjem 1997 stopila v veljavo.

Sklep

Več kot tisoč let je bila Slovenija podrejena tujim, etnično močnejšim vladavinam. Kulturno se je Slovenija v srednjem veku razvijala pod vplivom dveh kulturnih središč: prevladujočega južnonemškega in oglejsko-beneškega. Začetki lekarništva v Sloveniji so v tesni zvezi s ustanovitvijo prvih lekarn v samostanih že od poznega srednjega veka.

Prve normativne lekarniške knjige, ki so bile v uporabi na slovenskem ozemlju, so bile veljavne tudi na prostoru Svetega rimskega cesarstva nemške narodnosti. Avtorji teh knjig so bili zdravniki slavne salernitanske medicinske šole. Prve uradne lekarniške knjige na Slovenskem so izšle v nemških mestih z visoko razvito trgovino in kulturo, v katerih se je začel knjigotisk (Nürnberg, Augsburg). Več stoletij so se morali slovenski lekarnarji ravnati po predpisih avstrijskih farmakopej. Ob začetku 20. stoletja, ko so se Slovenci osvobodili dolgotrajne germanske nadvlade in prišli v jugoslovansko državo jezikovno sorodnih narodov, so sprejeli skupno farmakopejo, ki je veljala sedem desetletij. Po pridobitvi samostojnosti so Slovenci prevzeli tretjo izdajo Evropske farmakopeje. Iz vsega navedenega

sledi, da so slovenski lekarnarji pet stoletij uporabljali veljavne predpise o zdravilih, podobno kot ostali evropski narodi.

Literatura

1. Krajanski A. Deontologijska načela starih ljekopisa. Farm Vjesnik 1925.
2. Krbavčič A. Etika in deontologija v farmaciji. Farm Vestn 2001;70:471-476.
3. Minarik F. Iz naših starih apoteka. Pro medico 2-IV, Ljubljana: Lek, 1972:100-115.
4. Castiglioni A. Histoire de la medicine. Paris: Payot, 1931, 257.
5. Minarik F. Od staroslovanskega vraštva do sodobnega zdravlila. Ljubljana: Slovensko farmacevtsko društvo, 1971.
6. Bohinc P. Ob 750-letnici konstitucij Friderika II. Farm Vestn 1991; 42 (2):167-173.
7. Minarik F. O bolnikih in zdravilih v cistercijskih samostanih. Farm Vjesnik 1924.
8. Prunk J. Kratka zgodovina Slovenije, Ljubljana, Založba Grad, 2002, 31.
9. Jović P. Prve tiskane knjige s področja farmacije v knjižnicah Slovenije. Farm. Vestn 2005; 56, 1: 17-19.
10. Gestrin F. Gospodarske povezave jugoslovanskih dežel in Italije v 15. in 16. stoletju. Istorjski časopis 1971; 18: 155-163.
11. Pintar I. Kratka zgodovina medicine. Ljubljana: Medicinska fakulteta, 1950, 197.
12. Nowotny O. Die Bedeutung der Medizinischen Fakultät der Universität Wien für das Apothekerwesen Wiens. Österr Apoth Zeitung 1965; 19: 298-310.
13. Minarik F. Iz sterejše dobe lekarništva v Sloveniji. V: Almanah III Kongresa slovenskih apotekara. Zagreb, 1935, 114-121.
14. Minarik F. Od staroslovanskega vraštva do sodobnega zdravlila. Ljubljana Slovensko farmacevtsko društvo, 1971, 145.
15. Minarik F. Naša materia medica v XVI. stoletju. Farm Vestn 1953; 3(5-6): 76-87
16. Müller-Jahncke F, Fridrich Ch. Geschichte der Arzneimitteltherapie. Stuttgart, Deutscher, Apotheker Verlag, 1996, 37.
17. Schott H. Die Chronik der Medizin, Chronik Verlag, 1993, 148.
18. Kremers E, Urdang G. German and Austrian Pharmacopoeias. In: History of Pharmacy. London: J.B. Lippincott 1951: 127-131.
19. Minarik F. Naša materia medica XVII stoletja. Acta Pharm Jug 1954; 4(1) 1-11
20. Nowotny O. Das Dispensatorium Viennense. Österr Apoth Zeitung 1983; 37: 329-333
21. Nowotny O. Apotheker- ein alter Stand. Österr Apoth Zeitung 1998; 52(2): 62-67.
22. Jović P. The first national pharmacopoeias among Serbs, Croats and Slovenes. First Balkan Congress for History of Medicine, Ohrid, october 23-25, 2003, 131.
23. Pharmacopoea Serbica editio secunda, Beograd, Državna štamparija Kraljevine Srbije, 1908.
24. Pharmacopoea Jugoslavica editio prima, Beograd, Štamparija Dragutina Gregorića, 1934.
25. Grdinić V. Stefanini L. Tradicija objavljivanja farmakopeja. Farm Glasn 1991; 47(12): 361-371.
26. Beljanski N. Nova jugoslovanska farmakopeja. V: Almanah III Kongresa slovenskih apotekara, Zagreb, 1935, 293-301.



SALUS

SALUS, Ljubljana, d.d., Mašera-Spasičeva ul. 10, 1000 LJUBLJANA, tel. 01 58 99 100, faks: 01 56 81 022

Sprememba specifičnosti imunoglobulinov razreda G pod vplivom elektro-oksidacije

Changes in specificity of class G immunoglobulins after electro-oxidation

Jasna Omersel, Borut Božič

Povzetek Oksidacija protiteles povzroči spremembe tudi v hipervariabilni regiji, kar lahko vodi do spremenjenih vezalnih sposobnosti protiteles - njihove afinitete in specifičnosti. V naši raziskavi elektro-oksidacije IgG frakcije serumov 21 krvodajalcev in 9 bolnikov z anti-fosfolipidnim sindromom smo ugotovili, da 1./ se specifičnost protiteles spremeni iz naravnih v patogene proti β_2 -glikoproteinu I, 2./ povzroči elektro-oksidacija protiteles proti β_2 -glikoproteinu I zmanjšanje imunoreaktivnosti, in 3./ podaljšana oksidacija povzroči izgubo imunoreaktivnosti zaradi denaturacije. Naši rezultati odpirajo možno razlago, da do avtoimunskih odzivov ne pride samo zaradi sprememb v antigenih ampak tudi zaradi oksidacijskih sprememb v protitelesih.

Ključne besede: protitelesa, elektro-oksidacija, specifičnost, imunoreaktivnost

Abstract Oxidation of antibodies causes changes in the hypervariable region also leading to altered binding properties of antibodies – their affinity and specificity. In our research of electro-oxidation of IgG fraction from sera of 21 blood donors and 9 patients with antiphospholipid syndrome we found out that 1./ specificity of IgG has been changed from normal to pathogenic anti- β_2 -glycoprotein I antibodies, 2./ electro-oxidation has caused decrease in immunoreactivity of anti- β_2 -glycoprotein I antibodies, and 3./ prolonged oxidation has led to loss of immunoreactivity due to denaturation. Our results have opened the possibility that autoimmune reactions could also appear in consequence of oxidative changes in antibodies.

Key words: antibodies, electro-oxidation, specificity, avidity, immunoreactivity

1. Uvod

1.1. Oksidacija proteinov

Oksidacija proteinov je dobro poznan proces kemične nestabilnosti peptidov in tekočih ter trdnih proteinskih farmacevtskih pripravkov. Spremembe v kovalentnih vezeh lahko povzročijo spremembo terciarne in kvartane strukture proteina, kar najpogosteje vodi do izgube njegove biološke aktivnosti (1). Oksidacija lahko poteče pod vplivom neradikalnih ali radikalnih oksidantov. Posledica je nastanek in sproščanje novih reaktivnih snovi, spremenjena regulacija in ekspresija genov, modulacija celičnega signaliziranja, indukcija nekroze ali apoptoze (2). Dvig znotrajcelične koncentracije teh oksidirajočih spojin in kopičenje pod njihovim vplivom spremenjenih bioloških molekul vodi v organizmu do stanja oksidativnega stresa (3).

Večina radikalov ima elektrofilni značaj, zato reagirajo z aminokislinami, ki imajo v stranski verigi veliko elektronsko gostoto (2). Med najlažje oksidirajoče aminokisline tako spadajo aromatske

(tirozin, triptofan, fenilalanin) in žveplo vsebujoči aminokislinski metionin in cistein (4).

1.2 Oksidacija protiteles

Enostavno protitelo sestavljata po dve identični lahki in dve težki verigi, med seboj povezane z nekovalentnimi hidrofobnimi in kovalentnimi disulfidnimi vezmi. Na N-terminalnem koncu molekule se nahaja variabilni predel. Z rentgensko difrakcijsko spektroskopijo je bilo ugotovljeno, da so aminokisline v tem predelu organizirane v tri hipervariabilne zanke, v katerih je le 5-10 aminokislin odgovornih za vezavo z imunogenom, t.j. molekulo, ki sproži imunski odziv (5, 6).

Hipervariabilne regije so hkrati tudi najbolj izpostavljen in zato najbolj občutljivejši del molekule protitelesa, saj aminokisline tam niso dodatno stabilizirane s hidrofobnimi interakcijami (5, 6). Oksidacija aminokislin v hipervariabilnih regijah protiteles tako lahko vodi do spremembe v zgradbi same regije in s tem posledično do spremembe imunoreaktivnosti, afinitete ali celo specifičnosti molekule

Jasna Omersel, mag.farm., Klinični center, Klinični oddelek za revmatologijo, Vodnikova 62, Ljubljana
prof.dr. Borut Božič, mag.farm., Klinični center, Klinični oddelek za revmatologijo, Vodnikova 62, Ljubljana; Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, Ljubljana

Originalni znanstveni članki – Scientific articles

protitelesa. Ker je specifično razlikovanje med lastnim in tujim osnova imunskega sistema, vpliva sprememba v specifičnosti protiteles tudi na (ne)zmožnost tolerance do posameznikovih lastnih antigenov. Slednje pa predstavlja začetek procesa, ki lahko vodi v različne sistemske ali organske specifične avtoimunske bolezni (5, 6).

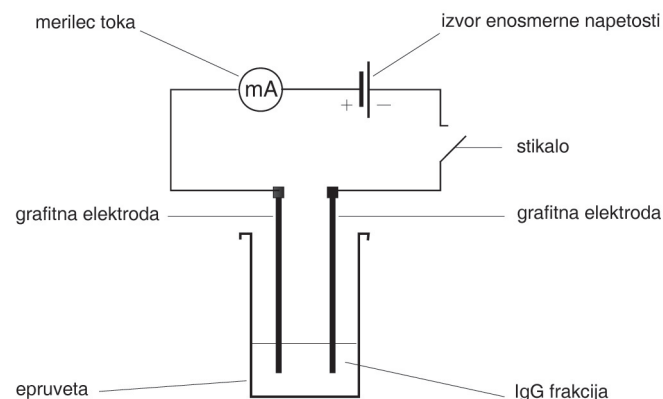
2. Namen raziskave

Z raziskavo smo nameravali ugotoviti, ali lahko z elektro-oksidacijo povzročimo spremembo v specifičnosti naravnih ali protimikrobnih protiteles, ki so prisotna v serumu klinično zdravih ljudi in protiteles proti β_2 -glikoproteinu I iz seruma bolnikov z antifosfolipidnim sindromom. Preverjali smo vpliv napetosti in časa izpostavitve protiteles elektro-oksidaciji na imunoreaktivnost vzorcev in specifičnost protiteles razreda G.

3. Materiali in metode

3.1 Imunoglobulinske frakcije

Protitelesa razreda G smo izolirali iz 21 serumov zdravih krvodajalcev in 9 serumov bolnikov z dokazanim antifosfolipidnim sindromom (7). Predhodna analiza je potrdila, da so bili vsi serumi krvodajalcev negativni na prisotnost protiteles proti β_2 -glikoproteinu I, serumi bolnikov pa pozitivni primerjano s koncentracijo monoklonskih protiteles HCAL (8).



Slika 1. Shema aparature za elektro-oksidacijo

Figure 1. Scheme of electro-oxidation instrument

Preglednica I: Čas trajanja elektro-oksidacije pri različnih vzorcih in napetostih.

Table I: Duration of electro-oxidation in different samples using different potential.

4,5 V	IgG krvodajalcev	15 s	30 s	1 min	5 min			
1,5 V	IgG krvodajalcev in bolnikov	15 s	30 s	1 min	5 min	10 min	15 min	20 min

3.2 Afinitetna kolonska kromatografija

Izolacijo protiteles razreda G iz seruma smo izvedli z uporabo analiznega kompleta ImmunoPure (G) IgG Purification Kit, po predpisanem postopku proizvajalca (9). Sama izolacija temelji na afinitetni kromatografiji, pri kateri je na matriks (premrežena agaroz) kot ligand kovalentno vezan protein G. To je protein, izoliran iz celične stene bakterij *Streptococcus*, ki se veže pretežno na konstantne predele težke verige (Fc predel) protiteles in omogoča učinkovito izolacijo protiteles razreda G, vključno z vsemi podrazredi. Eluirane frakcije IgG smo nanesti še na razsoljevalno kolono, kjer je po principu izključitvene kromatografije potekla zamenjava acetatnega pufra s fosfatnim (pH= 7,4).

3.3 Elektro-oksidacija

Izolirane frakcije IgG smo izpostavili električnemu toku pri napetosti 4,5 V in 1,5 V (vzorci krvodajalcev) ali 1,5 V (vzorci bolnikov) (Preglednica I). Primerljive pogoje smo dosegli z uporabo enakega volumna, enake razdalje med elektrodama, enake dolžine potopljenega dela elektrode in hlajenjem. Z ampermetrom smo merili časovno odvisnost toka (Slika 1).

3.4 Indirektna encimsko imunska metoda

Spremembo v imunoreaktivnosti in specifičnosti protiteles smo določali z encimsko imunsko metodo (ELISA), ki se rutinsko uporablja v laboratorijski diagnostiki antifosfolipidnega sindroma. Antigen je predstavljal β_2 -glikoprotein I, kot kontrolni material pa smo uporabili himerna monoklonska protitelesa razreda IgG (HCAL) (8).

Na visokovezavne mikrotitrne plošče smo kot antigen nanesti po 50 μ L β_2 -glikoproteina I v koncentraciji 1mg/mL. Po inkubaciji in spiranju s PBS-0,05% Tween 20 smo na plošče nanesti a/ vzorce (serume), b/ izolirane neoksidirane in c/ pripadajoče oksidirane IgG frakcije. Zaradi redčenja vzorcev kot posledice izolacije IgG in razsoljevanja je bilo potrebno uvesti korekcijska faktorja, ki sta omogočila izračun volumna IgG frakcije s primerljivo koncentracijo protiteles, kot bi jih sicer vseboval predpisani volumen seruma (4 μ L).

3.5 Protitočna imuno-elektroforeza

Možno spremembo imunoreaktivnosti protiteles proti β_2 -glikoproteinu I smo preverjali z uporabo protitočne imuno-elektroforeze (8). S slednjo odkrivamo prisotnost predvsem protiteles proti znotrajceličnim antigenom (Ro, La, Sm, Jo-1, Scl-70...) (10, 11). Na stekleno ploščo z agaroznim gelom (1%) smo v izrezane luknjice nanesti vzorce, t.j. serume, izolirane neoksidirane in pripadajoče oksidirane IgG frakcije, izolirane iz seruma zdravih krvodajalcev. Kot antigen smo uporabili kunčji timusni ekstrakt in v laboratoriju pripravljen ekstrakt iz človeške vranice (11).

Sprememba specifičnosti imunoglobinov razreda G pod vplivom elektro-oksidiacije

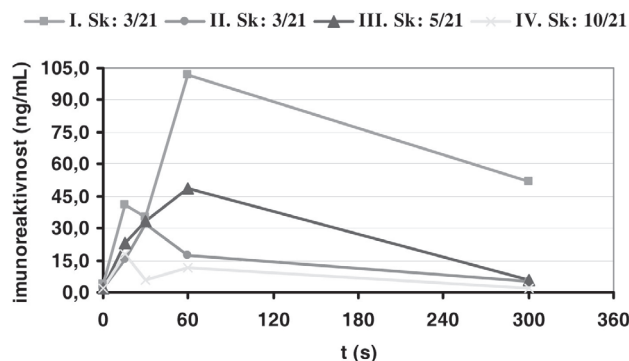
4. Rezultati in razprava

Oblikovanje množice različnih protitelesnih vezišč razlagamo na genski ravni s preurejanjem genskih segmentov za variabilni del težke in lahke verige protiteles, z nenatančnostjo rekombinacij, dodajanjem nukleotidov, s somatskimi mutacijami, na proteinski ravni pa s konformacijskimi prilagoditvami. Post-translacijske spremembe protiteles so vezane predvsem na glikozilacijo, vendar pa v to skupino sodijo tudi neželene spremembe proteina zaradi oksidacije. Obsežna oksidacija proteinov praviloma vodi v izgubo njihove biološke aktivnosti, omejena oksidacija pa ne. Posebnost je oksidacija aminokislin v vezišču protiteles, ki lahko teoretično vodi v spremenjene vezalne sposobnosti protitelesa do različnih antigenov in celo v spremembo specifičnosti protitelesa. McIntyre je s sodelavci poročal o spremembah imunoreaktivnosti in specifičnosti protiteles v pripravku za intravensko aplikacijo po oksidacijsko-redukcijskih procesih (12). Ugotovili so, da je oksidacija potekla pod vplivom ene izmed komponent i.v. pripravka, in sicer hemina (derivat hemoglobina, ki vsebuje Fe^{3+} ione). Dokazali so, da se pod vplivom nekaterih oksidantov (hemin, KMnO_4) kot tudi pri uporabi enosmerne napetosti (4,5 V in 9 V) v i.v. pripravkih lahko pojavijo mnoga avtoproteles, ki jih pred tem z istimi laboratorijskimi metodami niso zaznali (13).

V okviru naše študije smo preverjali, ali je možno z elektro-oksidiacijo pri nižjih napetostih in posledično nižjih tokovih spremeniti specifičnost naravnih protiteles v diagnostično pomembna (patogena) in obratno. Osredotočili smo se izključno na izolirana protitelesa, saj smo želeli izključiti možne vplive serumskih sestavin, ki bi lahko spremenile ali preprečile potek oksidacije protiteles (12). Elektro-oksidiacijo smo izbrali zato, ker z njo lahko ponazarjamo oksidacijsko redukcijske reakcije *in vivo*, ne da bi v sistem uvajali dodatne snovi. Med samim potekom elektro-oksidiacije smo merili spremembe toka. Ugotovili smo, da je pri vseh vzorcih, oksidiranih pri napetosti 4,5 V, tok v odvisnosti od časa naraščal. Razpon vrednosti izmerjenega toka je bil od 5,93-14,65 mA. Pri vzorcih, oksidiranih pri napetosti 1,5 V, je tok s časom ostajal konstanten in je, glede na vzorec, zavzemal vrednosti od 0,012-0,025 mA.

Po elektro-oksidiaciji smo z ELISA preverjali spremembo specifičnosti oksidiranih protiteles. V vseh 21 oksidiranih vzorcih krvodajalcev so se protitelesa vezala na $\beta_2\text{GPI}$, čeprav vezave pred elektro-oksidiacijo nismo zaznali. Klinično pomembno zvišanje imunoreaktivnosti je bilo prisotno kar pri 20/21 vzorcev. Pri IgG frakcijah krvodajalcev, oksidiranih pri napetosti 1,5 V je do nastanka protiteles proti $\beta_2\text{GPI}$ v klinično pomembnih koncentracijah prišlo pri polovici testiranih vzorcev (4/8). Sama sprememba v specifičnosti protiteles pod vplivom elektro-oksidiacije se je izkazala kot dinamičen in zelo raznolik proces, odvisen od časa, napetosti in izvora vzorca. Ugotovili smo, da čas izpostavitve vzorca določeni napetosti vpliva tudi na spremembo imunoreaktivnost protiteles proti $\beta_2\text{GPI}$. Imunoreaktivnost je izražena kot koncentracija monoklonskih protiteles, ki so izkazovala številčno enako absorbanco kot določani vzorci. Krivulje na sliki 2 ponazarjajo štiri skupine, v katere smo lahko razdelili oksidirane vzorce krvodajalcev, ki so bili izpostavljeni enaki napetosti in so imeli podoben potek sprememb v imunoreaktivnosti. Vsem 21 vzorcem zdravih krvodajalcev, oksidiranih pri 4,5 V, je skupen izrazit padec imunoreaktivnosti po 5 min v primerjavi z maksimalno vrednostjo,

doseženo pri enem od merjenih časov. Devetnajstim vzorcem je imunoreaktivnost po 5 min padla pod klinično pomembno vrednost. Do klinično pomembnega povišanja imunoreaktivnosti pa je prišlo tudi po oksidaciji vzorcev krvodajalcev z napetostjo 1,5 V, in sicer pri 4-ih od 8-ih vzorcev. Manjše spremembe, ne pa tudi pomembnega povišanja imunoreaktivnosti, smo zaznali po oksidaciji (1,5 V) IgG frakcij, izoliranih iz seruma bolnikov z antifosfolipidnim sindromom.



Slika 2: Spremembe imunoreaktivnosti pri različnih skupinah vzorcev krvodajalcev, oksidiranih pri 4,5 V

Figure 2: Changes of immunoreactivity in different groups of healthy-donors samples, oxidized with 4,5 V

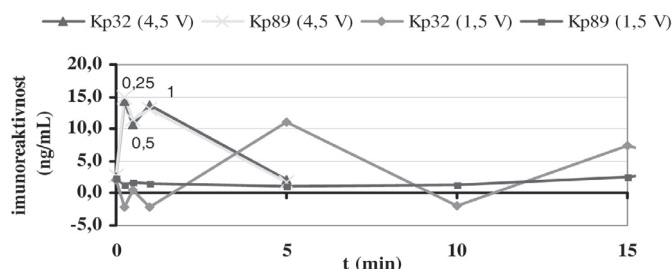
Spremembe v imunoreaktivnosti po kratki izpostavitvi oksidacije so posledica preoblikovanja v hipervariabilnih regijah, kar utemeljujemo z naslednjimi opažanji: prvič, začetne spremembe imunoreaktivnosti so bile prisotne v obeh smereh (povečanje in zmanjšanje), torej ni šlo zgolj za »okvaro« protiteles; drugič, v primeru povečevanja nefunkcionalnosti protiteles zaradi oksidacije, bi pričakovali zmanjševanje imunoreaktivnosti vzorcev bolnikov s časom izpostavitve električnemu toku – pa temu ni bilo tako. Celo več, v vzorcih zdravih oseb so se pojavila protitelesa proti $\beta_2\text{GPI}$, ki imajo diagnostični pomen za avtoimunsko trombozo. Tega pojava ne moremo pripisati zgolj nespecifičnim vezavam, saj so bila zaznana z metodo, ki se uporablja v rutinski laboratorijski diagnostiki in je redno medlaboratorijsko primerjana (14, 15). Po daljšem času, sploh pri višjih napetostih (4,5 V), pa verjetno pride tudi do prestrukturiranja oz. porušitve interakcij med aminokislinami še v drugih delih protitelesa in s tem do znatnega znižanja imunoreaktivnosti ter končno do denaturacije.

V sami hipervariabilni regiji so kemične in strukturne lastnosti posamezne aminokislinske odločilne pri oblikovanju antigen vezavnega mesta in za interakcije z antigenom. Najbolj zastopana aminokislinska ostanka v samem vezavnem mestu pa sta tirozin (25%) in triptofan (10,2%) (16). Sposobnost tvorbe vodikovih vezi, hidrofobnih interakcij in privlačnih elektrostatskih sil med pozitivno nabitimi skupinami in samim aromatskim obročem ter fleksibilnost obroča, omogočajo, da tirozin in triptofan tvorita interakcije s strukturno zelo različnimi antigeni (16). Prav ti dve aminokislini oz. njuni stranski verigi, sta tudi najbolj dovzetni za oksidacijo.

Naši rezultati kažejo tudi na to, da je imunoreaktivnost in z njo sprememba v specifičnosti pod vplivom elektro-oksidiacije odvisna od same strukture vezavnega mesta antigena. Vzorci, ki so pri 4,5 V

Originalni znanstveni članki – Scientific articles

izkazovali enako časovno odvisnost in bili pozitivni, so se pri 1,5 V odzvali popolnoma različno (slika 2). V predhodnih raziskavah, ki so nakazovale celo na možnost elektro-oksidacije kot novega sinteznega pristopa, je bilo ugotovljeno, da je oksidacija posameznih aminokislin odvisna od uporabljene napetosti, s čimer je možno zagotoviti tudi selektivnost oksidacije (17). Očitno je, da v naših poskusih tok, povzročen z napetostjo 4,5 V, ni povzročil enakih sprememb kot tok pri napetosti 1,5 V in da so se pri posamezni napetosti oksidirale le določene aminokisliline v hipervariabilnih regijah protiteles iz različnih vzorcev. Repertoar prisotnih naravnih protiteles t.j. polireaktivnih protiteles prisotnih v serumu zdravih posameznikov brez predhodne imunizacije, je vsekakor dovolj raznolik, da to omogoča (18).



Slika 3: Primerjava sprememb imunoreaktivnosti vzorcev krvodajalcev oksidiranih pri 4,5 V in 1,5 V.

Figure 3: Comparison of immunoreactivity changes between healthy blood donors samples oxidized with 4,5 V and 1,5 V.

Pri preverjanju sprememb v specifičnosti z metodo protitočne imuno-elektroforeze nismo dobili pozitivnega rezultata. Odsotnost oborine pomeni, da oksidirane IgG frakcije, izolirane iz seruma zdravih krvodajalcev, niso vsebovale protiteles, ki bi se vezala na znotrajcelične antigene. Glede tega se naši rezultati razlikujejo s poročilom McIntyre in sodelavcev, ki so po oksidaciji IgG frakcije zdravih ljudi s heminom odkrili tudi protitelesa proti jedrnim antigenom (13). Ugotavljamo lahko, da vodi oksidacija protiteles do različnih rezultatov tako glede uporabljene napetosti (naši rezultati: 4,5 V ali 1,5 V), kakor tudi glede uporabljenega oksidacijskega sredstva (npr. hemin).

Zaključimo lahko, da naravna protitelesa niso enako dovzetna za oksidacijo, kar posledično pomeni tudi različno dovzetnost posameznika za pojav avtoimunskih reakcij, ki ob prisotnosti še nekaterih drugih dejavnikov vodijo v razvoj avtoimunske bolezni. Pogoji ob elektro-oksidaciji seveda niso enaki tistim *in vivo*, dejstvo pa je, da se v telesu vsakodnevno odvijajo oksidacijski procesi. S tem se ponovno odpira vprašanje o pomenu dodatnega vnosa antioksidantov v telo, kar je lahko v pomoč telesu lastnim antioksidativnim mehanizmom, da ob nastanku oksidativnega stresa preprečijo oksido-redukcijske pretvorbe naravnih protiteles v avtoprotitelesa in s tem morebitni razvoj avtoimunskih bolezni pri dovzетnejših posameznikih.

5. Sklep

Z našimi raziskavami smo potrdili, da elektro-oksidacija vodi tudi do spremembe specifičnosti protitelesa, kar je posledica strukturne

spremenbe v molekuli protitelesa, predvsem v hipervariabilnih regijah. Pomembno je, da smo spremembo specifičnosti zaznali tudi pri nizki napetosti (1,5 V). Sprememba specifičnosti je odvisna tako od napetosti in časa oksidacije, kot tudi od same sestave protiteles. Ugotovili smo, da se pod vplivom električne napetosti spremeni imunoreaktivnost v serumu prisotnih patogenih protiteles, vendar klinično pomembnih sprememb pri danih pogojih nismo dokazali. Dokazali pa smo, da naravno prisotna protitelesa z oksidacijo pridobijo sposobnost vezave z novimi, celo telesu lastnimi, antigeni, oziroma pridobijo lastnosti patogenih avtoprotiteles.

6. Zahvala

Raziskave so bile opravljene v okviru raziskovalnega programa Sistemske avtoimunske bolezni, ki ga sofinancira MZŠS Republike Slovenije (št. P3-0314). Avtorja se zahvaljujeta dr. Tanji Kveder, dr. Saši Čučnik in Poloni Žigon za pomoč pri delu.

7. Literatura

1. Yoshioka S, Stella VJ. Stability of drugs and dosage forms. New York, Boston, Dordrecht, London Moscow: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000: 187-203.
2. Davies MJ. The oxidative environment and protein damage. Biochimica Biophysica Acta. 2005; 1703(2): 93-109.
3. Pochernich CB, Sultana R, Mohammad-Abdul H et al. HIV-dementia, Tat-induced oxidative stress, and antioxidant therapeutic considerations. Brain Research Reviews 2005; 50: 14-26.
4. Wang W. Instability, stabilization, and formulation of liquid protein pharmaceuticals. International Journal of Pharmaceutics 1999; 185: 129-188.
5. Vozelj M. Temelji imunologije, Državna založba Slovenije, Ljubljana, 2000: 53-54, 92-97, 275-304.
6. Alberts B, Bray D, Lewis J et al. Molecular biology of the cell. 3rd ed. New York: Garland Publishing, 1994: 89-136, 1195-1251.
7. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et.al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report on international workshop. Arthritis & Rheumatism 1999; 42 (7): 1309-11.
8. Čučnik Ambrožič A, Božič B, Skitek M, Kveder T. Anti-beta₂-glycoprotein I ELISA: methodology, determination of cut off values in 434 healthy Caucasians and evaluation of monoclonal antibodies as possible international standards. Clinical Chemistry Laboratory Medicine 2000; 38(8): 777-783.
9. Pierce. Pierce Instructions- ImmunoPure (G) IgG Purification Kit
10. Kveder T, Božič B. The quality assurance and organization of autoantibody laboratory. The 5th FESCC Continuous Postgraduate Course in Clinical Chemistry, New trends in classification, monitoring and management of autoimmune diseases 2005: 67-76.
11. Bunn C, Kveder T. Counterimmunoelectrophoresis and immunodiffusion for the detection of antibodies to soluble cellular antigens. In: vanVenrooij WJ, Maini RN (eds) Manual of Biological Markers of Disease. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1996, A3:1-12.

Sprememba specifičnosti imunoglobinov razreda G pod vplivom elektro-oksidiacije

12. McIntyre JA. The appearance and disappearance of antiphospholipid autoantibodies subsequent to oxidation-reduction reactions. *Thrombosis Research* 2004; 114: 579-587.
13. McIntyre JA, Wagenknecht DR, Page Faulk W. Autoantibodies unmasked by redox reactions. *Journal of Autoimmunity* 2005; 24: 311-317.
14. Reber G, Tincani A, Sanmarco M, de Moerloose P, Boffa MC. Proposals for the measurement of anti-beta2-glycoprotein I antibodies. Standardization group of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. *Journal of thrombosis and haemostasis* 2004; 2(10): 1860-1862.
15. Tincani A, Allegri F, Balestrieri G, Reber G, Sanmarco M, Meroni P, Boffa MC. Minimal requirements for antiphospholipid antibodies ELISAs proposed by the European Forum on antiphospholipid antibodies *Thrombosis Research* 2004; 114 (5-6): 553-558.
16. Mian I.S, Bradwell A.R, Olson A.J. Structure, Function and Properties of Antibody Binding Sites. *Journal of Molecular Biology* 1991; 217: 133-151.
17. Walton DJ, Richards PG, Heptinstall J, Coles B. Electrosynthetic modification of proteins: electrooxidations at methionine and tryptophan in hen egg-white lysozyme. *Electrochimica Acta* 1997; 42: 2285-2294.
18. Lacroix-Desmazes S, Kaveri SV, Mouthon L, Ayoub A, Malanchère E, Coutinho A, Kazatchkine MD. Self-reactive antibodies (natural autoantibodies) in healthy individuals. *Journal of Immunological Methods* 1998; 216: (1-2) 117-137.

Družbeno breme sladkorne bolezni tipa 2

Burden of type 2 diabetes

Julija Jelić, Jože Drinovec, Aleš Mrhar

Povzetek Sladkorna bolezen tip 2 (SB2) je najbolj razširjena neinfektivna bolezen v svetu, za katero je značilna kronična hiperglikemija. Sladkornega bolnika (SB) ogrožajo številni kronični zapleti.

Metode: Zbrani so bili podatki o zdravljenju in epidemioloških značilnostih v Sloveniji in v svetu, podatki o letni porabi zdravil za zdravljenje SB2 in spremljajočih dejavnikov tveganja. Ocenjeni so bili deleži posameznih skupin zdravil, ki jih porabijo SB, ter letni stroški optimalne obravnave bolnikov v Sloveniji, če bi bili vsi odkriti.

Rezultati: Prevalenca vseh bolnikov v Sloveniji je 170000, kar predstavlja 8,6 % prebivalstva. Incidenca v Sloveniji je 4000 do 5000 letno, kar predstavlja 0,47 % porasta incidence v Evropi.

Optimalna obravnava vseh odkritih bolnikov, zdravljenih s peroralnimi antidiabetiki, stane približno 5 milijard SIT, bolnikov, zdravljenih z inzulini, 3,8 milijarde in pri bolnikih brez antihiperglikemične farmakoterapije okrog 2,2 milijarde SIT. Optimalno zdravljenje SB, ki se zdravijo le z dieto, stane 37.495,00 SIT/bolnika/leto, zdravljenje s peroralnimi antidiabetiki 75.000,00 SIT/bolnika/leto in zdravljenje z inzulini 90.148,00 SIT/bolnika/leto. Optimalna obravnava vseh 170000 bolnikov v Sloveniji bi zahtevala 11.161.643.790,00 SIT, kar predstavlja 0,79 % BDP in 2,26 % javnih sredstev za zdravstvo. Največji strošek predstavlja hospitalizacija zaradi zapletov s pripadajočimi kirurškimi posegi, ki zavzema 51 % vseh stroškov zdravljenja.

Ključne besede: sladkorna bolezen tip 2, zdravljenje, epidemiološka analiza, farmakoepidemiološka analiza, stroški zdravljenja

Abstract Type 2 diabetes is the most spread non-infectious disease worldwide, characterised by chronic hyperglycaemia. Patients with type 2 diabetes are threatened by numerous chronic disorders.

Methods: Data on treatment, epidemiological characteristics and annual consumption of the drugs for treatment of type 2 diabetes and other risk factors for cardiovascular disease in Slovenia and worldwide were collected. Part of total drug consumption for need of diabetic patients in Slovenia for selected groups of drugs were calculated. The costs of optimal treatment of all patients in Slovenia, if they were all diagnosed, were estimated.

Results: Prevalence of type 2 diabetes is 170000, thus presenting 8,6 % of population in Slovenia. The incidence is 4000 to 5000 per year, that is 0,47 % of incidence growth in Europe.

Optimal therapy of all diagnosed patients treated with oral antidiabetic agents would require about 5 billion SIT, treatment of those who consume various insulin drugs would cost 3,8 billion SIT and therapy of patients treated only with diet about 2,2 billion SIT. If calculated as annual costs per patient, it amounts 37.495,00 SIT per patient on oral antidiabetic agents, 75.000,00 SIT per patient on insulin drugs and 90.148,00 SIT per patient on diet. The costs of optimal treatment of all 170000 patients in Slovenia would require 11,2 billion SIT, that is 0,79% of the gross national product and 2,26 % of total public health care expenditures. The greatest expense present the costs of hospitalization, which take 51 % of all expenditures.

Key words: type 2 diabetes, therapy, epidemiological analysis, pharmacoepidemiological analysis

1 Seznam okrajšav

AARII: antagonisti angiotenzinskih receptorjev II;

ACEi: zaviralci angiotenzinske konvertaze

ADA: Ameriško združenje za diabetes (*ang.* American Diabetes Association)

AHA: Ameriško združenje za srce (*ang.* American Heart Association)

AMI: akutni infarkt miokarda

βB: zaviralci adrenergičnih receptorjev α

CVI: cerebrovaskularni inzult

DAHS: diabetični aketotični hiperosmolarni sindrom

DKS: diabetični ketoacidozni sindrom

EASD: Evropsko združenje za proučevanje diabetesa (*ang.* European Association for Study of Diabetes); **EASD-DNG:** EASD-Diabetična prehrabena skupina (*ang.* Diabetes Nutrition Group)

HT: hipertenzija

Julija Jelić, mag.farm., Grünenthal d.o.o., Dunajska cesta 156, 1000 Ljubljana
prof. dr. Jože Drinovec, dr.med., Krka d.d., Dunajska 65, 1000 Ljubljana
prof. dr. Aleš Mrhar, mag.farm., Fakulteta za farmacijo, Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

Družbeno breme sladkorne bolezni tipa 2

JNC-7: Poročilo sedmega srečanja nacionalnega komiteja za preprečevanje, odkrivanje, vrednotenje in zdravljenje povišanega krvnega tlaka (*ang.* Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure)

MBG: motena bazalna glikemija

MTG: motena toleranca za glukozo

NCEP-ATP III: Nacionalni edukacijski program za zdravljenje odraslih s povišanim holesterolom (*ang.* National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III); **NTG:** normalna toleranca za glukozo

PAD: peroralni antidiabetiki

RAS: renin-angiotenzinski sistem

RT: relativno tveganje;

SB: sladkorni bolniki

SB2: sladkorna bolezen tip 2

SZO: Svetovna zdravstvena organizacija

SŽ: srčnožilni; **SŽB:** srčnožilna bolezen

TG: trigliceridi

2. Uvod

Sladkorna bolezen je bolezen, za katero je značilna kronično povečana koncentracija glukoze v krvi in je heterogena tako po kliničnih značilnostih kot po etiopatogenezi. Vzroki še niso povsem razjasnjeni. Trajna hiperglikemija je lahko posledica motnje na treh ravneh: v trebušni slinavki, v perifernih tkivih in v jetrih. Motnje na ravni zmanjšane odzivnosti tarčnih celic za inzulin lahko spodbujajo nastanek motenj v njegovem izločanju in obratno (1). Verjetno igra hipertenzija, ki je prisotna pri približno 60 % sladkornih bolnikov, pomembno vlogo v nastanku bolezni, saj je v nekaterih primerih zaporedje pojava hipertenzije in diabetesa obratno - najprej nastopi povišanje krvnega tlaka, ki mu sledijo občasne hiperglikemije (motena toleranca za glukozo - MTG) in nato kronično stanje hiperglikemije, ki sovpada s sočasno zmanjšano odzivnostjo za inzulin. Incidenca diabetesa se je izkazala za višjo pri hipertenzivnih bolnikih kot pri ljudeh normalnimi vrednostmi krvnega tlaka (2). Pri zmanjšani odzivnosti za inzulin, ki je najpomembnejši napovedni dejavnik tveganja za kasnejši razvoj sladkorne bolezni, je dedni dejavnik izredno močan, vendar so v razvoj vpleteni tudi dejavniki iz okolja. Nosečnostna oblika diabetesa se pojavi pri 2 do 5 % nosečnic ter praviloma izzveni po porodu, vendar imajo takšne ženske 30 % večje tveganje za ponovni pojav bolezni v poznejših letih kot ženske z normalno potekajočo nosečnostjo (3).

Veliko bolj kot akutni zapleti, ki so posledica nenormalnih nihanj koncentracije glukoze, pa ogrožajo sladkornega bolnika kronični zapleti, ki se pojavijo v povprečju pri osem do deset let trajajoči bolezni in se kažejo kot srčnožilna (SŽB), ledvična in nevropatska obolenja ter bistveno povečajo stroške zdravljenja. Sladkorna bolezen je sama po sebi enakovredna dvem ali trem običajnim dejavnikom tveganja (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10), vendar je najmočnejši dejavnik tveganja LDL-holesterol, na drugem mestu je sistolični tlak ter šele na tretjem mestu glikirani hemoglobin HbA1c, ki je parameter jakosti in trajanja hiperglikemije (4, 11). Poleg tega močno zvečajo tveganje za zaplete tudi debelost, kajenje, telesna neaktivnost, trombotični zapleti ter

dejavniki, na katere ni mogoče vplivati, tj. starost, spol, rasa ter etnična in kulturna pripadnost.

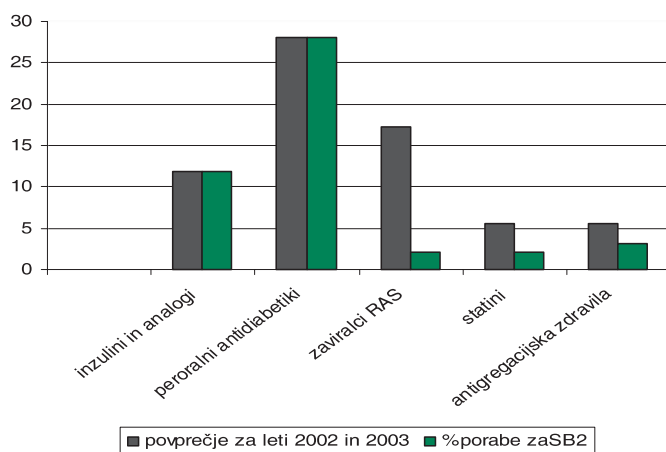
SŽB so vodilni vzrok smrtnosti v evropskih in ostalih industrializiranih državah in prizadenejo približno 80 % sladkornih bolnikov. Ocenjeno je, da so v letu 2003 povročile 1,9 milijona smrti v 25 evropskih držav (4).

SB2 ima trenutno 10 do 15 milijonov ljudi v Evropi in to število bo predvidoma do leta 2025 naraslo na 60 milijonov. Okrog 50 milijonov ljudi v Evropi ima eno od oblik motenj presnove, ki so povezane s kasnejšim nastankom SB2. Od tega števila 19 milijonov živi v Zahodni Evropi, približno 7 milijonov pa se svoje bolezni ne zaveda. Vsako leto registrirajo 850000 novih primerov (10, 12).

Ugotovili so, da se tveganje za to bolezen zvečuje, in sicer v ekonomsko ter socialno razvitejših državah, predvsem zaradi staranja prebivalstva. Povprečna starost za SB2 je ob odkritju 55 let, razmerje med moškimi in ženskami je 45 : 55 % (13). V večini evropskih držav namreč značilno narašča dejavnik tveganja za to bolezen – debelost, ki se je povečala na 10 – 50 % v zadnjem desetletju (14).

T.i. diabetična epidemija se širi. Po izračunih Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) je imelo leta 1985 okoli 30 milijonov ljudi v svetu eno od oblik sladkorne bolezni; leta 2000 je število naraslo na 177 milijonov. SZO napoveduje, da bo to število v letu 2010 naraslo na 221 milijonov, v letu 2025 na 300 milijonov in v letu 2030 na 370 milijonov (3, 14). Od tega bo ena tretjina bolnikov živela na Kitajskem in v Indiji. V Evropi je prevalenca najvišja v Nemčiji (10,6 %) ter v skandinavskih državah (4, 15).

Preventivni kontrolni pregledi so priporočljivi pri osebah, starejših od 45 let vsaka 3 leta, če je izvid normalen; pri mlajših od 45 let pa vsaki dve leti v primeru debelosti (indeks telesne mase > 27 kg/m² ali 20 % nad idealno telesno maso; pri visceralni debelosti pa z obsegom pasu nad 96 cm pri moških in nad 84 cm pri ženskah), SB2 v ožjem sorodstvu, dislipidemije (trigliceridi >2,8 mmol/L, HDL – holesterol



Slika 1: Poraba posameznih skupin zdravil, izraženih v ATC/DDD enotah št. DDD/1000preb/dan in delež porabe med SB2

Picture 1: Consumption of drug groups expressed in ATC/DDD/inhabitant/day units and part of consumption for need of diabetic patients

Originalni znanstveni članki – Scientific articles

< 40 mg/dL), arterijske hipertenzije (krvni tlak > 140/90 mm Hg), že znane MTG ali motene bazalne glikemije (MBG), pri ženskah z nosečnostno sladkorno boleznijo ali če so rodile težke otroke, tj. več kot 4,5 kg (5).

Namen našega dela je bil prikazati družbeno breme sladkorne bolezni tipa 2 v Sloveniji. Kot prvo nas je zanimal pristop k zdravljenju tako sladkorne bolezni kot tudi njenih kroničnih zapletov. V skladu s smernicami obstaja namreč več različnih pristopov k zdravljenju, odvisno od oblike, trajanja in spremljajočih zapletov, ne nazadnje pa tudi od starosti in motivacije bolnikov. Ob tem smo morali najprej ugotoviti pogostost in pojavnost v Sloveniji ter v nekaterih državah Evrope in ZDA, saj je skoraj v vseh državah moč opaziti drastičen trend naraščanja obolelih, kar neposredno vpliva na farmakoepidemiološke značilnosti in stroške zdravljenja v teh populacijah. V nadaljevanju smo ocenili, koliko v Sloveniji stane letno zdravljenje povprečnega bolnika, ki je podvržen optimalnemu zdravljenju z dieto, peroralnimi antidiabetiki ali z inzulinom. Hkrati smo ocenili tudi letne stroške, do katerih bi prišlo, če bi bili odkriti in optimalno zdravljeni vsi sladkorni bolniki v Sloveniji.

3. Metode

V okviru zdravljenja SB2 smo se osredotočili na farmakoterapijo SB2 in spremljajočih dejavnikov tveganja z namenom preprečevanja kroničnih zapletov. Osnovna priporočila za zdravljenje SB2 so smernice American Diabetes Association, za preprečevanje srčnožilnih zapletov pa smernice Evropskega komiteja za preventivo SŽB 2003, upoštevali pa smo tudi ostala priporočila, tj. American Heart Association (AHA), Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of

Tabela 1: Primerjava prevalence odkrite SB2 in dejavnikov tveganja v tujih državah in Sloveniji (v % prebivalstva)

Table 2: Comparison of prevalence of diagnosed type 2 diabetes and risk factors in Slovenia and worldwide (in % of population)

Dejavniki tveganja	ZDA	Švedska	Slovenija
SB2	6,3	3,3	4,3
Hipertenzija	73,0	50	50,9
Dislipidemija	52,0	55,0	
Metabolni sindrom	81,0	81,0	
Dislipidemija in hipertenzija	66,3	50,0	
Debelost	87,6	85,0	82,2
Kajenje	19,5	22,0	19,5
Čezmerno pitje alkoholnih pijač			16,6
Koronarna arterijska bolezen	31,1		
Angina pectoris	11,9	21,0	14,1
Srčno popuščanje	8,0		
Periferna arterijska bolezen	6,4	22,0	
Možganska kap	8,3	11,0	4,3
Srčna kap		12,0	3,8
Diabetična nefropatija	10-21	16,0	
Diabetične razjede na stopalu	15,0		
Retinopatije	12,0	39,0	
Blažje nevropatije	10,0	30,0	
Amputacije	0,45	1,8	

High Blood Pressure (JNC-7), European Association for Study of Diabetes (EASD), EASD - Diabetes Nutrition Group (EASD-DNG), National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III NCEP-ATPIII (5, 16).

Epidemiološke podatke za Slovenijo smo našli v raziskavi, ki jo je objavila Katedra za javno zdravje Medicinske fakultete v Ljubljani (17).

V tej raziskavi je podana ocena tako prevalence SB2 kot tudi nekaterih pomembnih dejavnikov tveganja. Za izračun optimalne obravnave vseh bolnikov v Sloveniji smo potrebovali tudi oceno prevalence neodkrite bolezni, ki so nam jo podali diabetologi iz Kliničnega oddelka za žilne bolezni bolnišnice Maribor. Slovenijo smo primerjali z dvema državama - ZDA in Švedsko. ZDA smo izbrali zaradi njihove velikosti in heterogenosti ameriške populacije, Švedsko pa zaradi socialne in ekonomske stabilnosti tako v evropskem kot tudi v svetovnem merilu. Podatke za Švedsko smo dobili iz objave Medicines Consumption in the Nordic Countries 1999-2003 (18), za ZDA v nacionalnem registru (19).

Oceno o deležu SB, ki se zdravijo s posameznimi skupinami zdravil, smo ravno tako dobili od diabetologov Kliničnega oddelka za žilne bolezni bolnišnice Maribor. Podatke o letni porabi posameznih zdravil v Sloveniji smo dobili iz Statistične pisarne Inštituta za varovanje zdravja (IVZ).

Izračun deleža posamezne skupine zdravil, ki ga porabijo SB, je prikazan na primeru enalapрила. Iz razmerja med številom receptov enalapрила, ki smo ga dobili iz statistične pisarne IVZ in pripadajoče skupine zdravil, tj. zaviralcev angiotenzinske konvertaze (ACEi) smo izračunali, kolikšen delež porabe ACEi zavzema enalapril, ki je npr. v letu 2002 znašal 71,23 %. Iz podatkov o porabi zdravil (IVZ) smo izračunali število DDD enalapрила/1000 prebivalcev/dan ter ga pretvorili v odstotni delež prebivalstva, ki se zdravi z enalaprilom. V letu 2002 se je z enalaprilom zdravilo 9,82 % vseh prebivalcev v Sloveniji. Ker zavzema poraba enalapрила 71,23 % porabe vseh ACEi, se zdravi z ACEi 13,79 % prebivalstva, med njimi tudi 47,5 % vseh odkritih SB (ocena diabeologov), ki predstavljajo 4,3 % prebivalstva, tj. 2,04 %. Razmerje med 2,04 in 13,79 znaša 14,79 %, kar predstavlja delež vseh ACEi, ki se porabi za SB. Enak postopek smo uporabili tudi za izračun deleža porabe antagonistov angiotenzinskih receptorjev II - AARII (losartan), statinov (simvastatin) in antiagregacijskih zdravil (acetilsalicilna kislina, klopido-grel). Poleg tega smo izračunali porabo vseh inzulinov in vseh peroralnih antidiabetikov (PAD). Pri končnem izračunu smo upoštevali povprečje zadnjih dveh let, za katere smo iz IVZ dobili podatke o porabi zdravil (2002, 2003).

V okviru farmakoekonomske analize smo izračunali neposredne medicinske in posredne stroške za obravnavo vseh sladkornih bolnikov v Sloveniji. Ob tem smo poleg cene zdravil potrebovali tudi podatke o ostalih zdravstvenih storitvah, ki jih potrebujejo sladkorni bolniki. Cene zdravil in zdravstvenih storitev smo dobili iz Zavoda za zdravstveno zavarovanje RS (ZZZS), cene laboratorijskih preiskav pa iz Kliničnega laboratorija Zdravstvenega doma Ljubljana - Bežigrad. Podatke o bruto družbenem produktu (BDP), javnih sredstvih za zdravstvo in ceni enega dne odsotnosti z dela smo dobili na spletnih straneh Urada za statistiko RS (20), oceno smrtnosti po srčni kapi (AMI) in možganski kapi (CVI) na spletni strani Zavoda Med. Over. net

Družbeno breme sladkorne bolezni tipa 2

Tabela 2: Izračun deleža zdravil, ki se porabi za sladkorne bolnike tipa 2
Table 2: Estimated parts of drug consumption for need of diabetic patients

2002				
zdravilo	število izdanih receptov	delež zdravljenega prebivalstva (v %)	delež zdravljenih sladkornih bolnikov (v %)	delež porabe za sladkorne bolnike (v %)
enalapril monokom.	611 032	7,33		
enalapril + kombin.	164 022	2,49		
enalapril skupni	775 054	9,82		
Vsi ACE inhibitorji	775 054	13,79	47,5	14,80
losartan monokom.	126 344	0,91		
losartan + kombin.	45 761	0,59		
losartan skupni	172 127	1,5		
antag. angiotenzina II	172 127	2,17	2,5	4,95
zaviralci RAS skupaj	947 159	15,96	50	13,47
aspirin	328 441	3,45	70	
klopidogrel	328 441	0,37	5	
aspirin in klop. skupno	328 441	3,82	75	
antitrombotiki skupaj	328 441	4,2	75	76,79
simvastatin	337 984	3,75		
statini	337 984	5,12	50	42

2003				
zdravilo	število izdanih receptov	delež zdravljenega prebivalstva	delež zdravljenih sladkornih bolnikov	delež porabe za sladkorne bolnike
enalapril monokom.	695 838	7,79		
enalapril + kombin.	186 905	2,64		
enalapril skupni	882 743	10,43		
Vsi ACE inhibitorji	882 743	15,82	47,5	12,91
losartan monokom.	152 829	1,01		
losartan + kombin.	57 385	0,65		
losartan skupni	210 214	1,66		
antag. angiotenzina	210 214	2,53	2,5	4,25
zaviralci RAS skupaj	1092 957	18,35	50	11,72
aspirin	472 685	4,53	70	
klopidogrel	472 685	0,45	5	
aspirin in klop. skupno	472 685	4,98	75	
antitrombotiki skupaj	472 685	6,73	75	47,92
simvastatin	397 372	3,75		
statini	397 372	5,82	50	36,94

(21). Kot osnovno orodje za izračun smo uporabili odločitveno drevo, s katerim smo bolnike razdelili glede na način zdravljenja v tri skupine, tj. z dieto, s PAD ali z inzulinom, vsi bolniki pa prejemajo tudi ustrezno preventivno zdravljenje za razvoj SŽB (ACE-inhibitorji oz. AARII, statini, antiagregacijska zdravila), v vsaki od teh pa kljub optimalnemu zdravljenju obstajajo verjetnosti za nadaljne kronične zaplete in smrt. Izračunali smo, kakšni so stroški zdravniških pregledov, vključujoč tudi laboratorijske teste, zdravila, bolniško oskrbo ter bolniški stalež za 1000 bolnikov v Sloveniji, nato pa smo to vrednost preračunali na vseh 170000 bolnikov, kolikor naj bi jih po naših ocenah pri nas bilo.

4. Rezultati in razprava

Preventiva in zdravljenje SB2

Pet obsežnejših kliničnih raziskav (7, 9,16) je proučevalo preventivo SB2, vendar do sedaj še nobena ni potrdila upravičenosti farmakoterapije v ta namen. Danes po smernicah ADA in ostalih priporočilih velja, da so ukrepi za preprečevanje nastanka SB2 pri ljudeh z normalno toleranco za glukozo (NTG) in z MTG le nefarmakološki, tj. kontrolirana dieta in povečana telesna aktivnost. Uporaba zdravil z namenom znižanja telesne teže pri debelih bolnikih

Originalni znanstveni članki – Scientific articles

Tabela 3: Razvrstitev 1000 sladkornih bolnikov glede na optimalno terapijo in verjetnost posameznih kliničnih izidov, izražena kot število bolnikov

Table 3: Division of 1000 diabetic patients in regard with optimal treatment and possibility of clinical outcomes expressed in number of patients

NAČIN ZDRAVLJENJA		dieta	PAD	inzulini	vsi
ŠTEVILO ZDRAVLJENIH BOLNIKOV OD 1000 BOLNIKOV		350	400	250	1000
ZDRAVILA	Inzulini			250	
	peroralni antidiabetiki		400		
	antihipertenzivi	280	340	225	845
	statini	245	340	225	810
	antiagregacijska zdravila	245	340	225	810
HOSPITALIZACIJA	koronarna dilatacija vstav. stenta	16	29	19	64
	ostale operacije	7	11	7	25
	intenzivna nega v bolnišnici po AMI	14	22	14	50
	intenzivna nega v bolnišnici po CVI	7	16	10	33
	navadna nega v bolnišnici	46	79	49	174
	zdravljenje na internističnem oddelku	7	11	7	25
	rehabilitacija v zdravilišču	7	16	10	33
ZDRAVNIŠKI	pregled pri zdravniku splošne prakse	350	4x400	4x250	2950
PREGLEDI	pregled pri specialistu diabetologu	53	3x 32	4.5x250	1274
	pregled pri specialistu kardiologu	350	200	3x 7	571
	odvzem venske krvi	350	4x400	4.5x250	3075
	merjenje konc. glukoze v krvi	350	4x400	4.5x250	3075
	merjenje koncentracije HbA1c	350	4x400	4.5x250	3075
	izdelava lipidograma	350	4x400	4.5x250	3075
BOLNIŠKI STALEŽ	odsotnost z dela	350	400	250	1000

nima podpore v zadostnem številu kontroliranih kliničnih raziskav in je tako evropske kot tudi ameriške smernice ne priporočajo (7, 16).

Sámo uravnavanje glukoze ni zadosten pogoj za preprečevanje makrovaskularnih zapletov, medtem ko ima na mikrovaskularne izide večji učinek.

Tlak je povišan pri 60 % do 75 % SB. Vse smernice priporočajo agresivno zdravljenje povišanega krvnega tlaka z ACEi kot zdravili prvega izbora, saj so najtemeljiteje in najpogostejše preiskovana zdravila. So dokazano učinkoviti pri srčnem popuščanju, sekundarni preventivi srčne kapi, imajo preventivni učinek na ledvice ter domnevno upočasnjujejo razvoj SB2 (22, 23, 24, 25). Previdnost pri predpisovanju je potrebna pri bolnikih z bilateralno arterijsko stenozo ledvic, saj je ta zaplet pri SB dokaj pogost. AARII so dokazano učinkoviti kot primarna preventiva SŽB in ledvičnih zapletov. So zdravila izbora pri sekundarni preventivi napredovale ledvične bolezni starejših sladkornih bolnikov. Še nobena raziskava ni potrdila prednosti AARII pred ACEi, razen v primeru kontraindikacij (22, 28, 27, 28). Podatki o uporabi zaviralcev adrenergičnih receptorjev α (α B) za znižanje krvnega tlaka pri SB2 so si še vedno nasprotujoči. Karvedilol, α -adrenergični zaviralec s kombiniranim neselektivnim α -in α 1- adrenergičnim antagonističnim delovanjem, je boljša izbira od ostalih α B pri diabetični populaciji, ker zveča izkoristek glukoze za 20 %, znižuje koncentracijo plazemskega inzulina za 8 %, povečuje koncentracijo HDL-holesterola za 8 %, znižuje raven serumskih trigliceridov za 20 % in ima ugodnejše učinke na srčno tkivo v primerjavi z ostalimi α B, npr. z atenololom (22). Zaviralci Ca-

kanalčkov so zdravila drugega izbora, ki se uporabljajo kot dodatna terapija k ostalim zdravilom (22, 25, 29). Kombinacija zaviralcev Ca-kanalčkov in ACEi se je izkazala za učinkovito v zmanjšanju proteinurije. Diuretiki, ki so sicer učinkovita in poceni zdravila za uravnavanje krvnega tlaka, so pri SB zdravila drugega izbora, saj je bilo dokazano, da poslabšajo hiperglikemijo z zvečanjem odpornosti tkiv za inzulin in zmanjšanjem izločanja inzulina (4, 23). Zaviralci α -adrenergičnih receptorjev nimajo preventivnega srčnožilnega delovanja in niso zdravilo izbora pri SB.

Statini so dokazano učinkoviti pri preprečevanju srčnožilnih (SŽ) dogodkov. Možno je znižanje koncentracije LDL-holesterola za 50 % in TG za 30 % ter povečanje koncentracije HDL-holesterola za do 15 %. Dokazano je, da tudi fibrati upočasnijo napredovanje koronarne arterijske bolezni pri SB ter izboljšajo endotelijsko funkcijo v kombinaciji z ubidekarenonom (3). V klinični praksi se redkeje uporablja tudi nikotinska kislina, ki je dokazano učinkovita v sekundarni preventivi srčne kapi (3, 4, 15, 22).

Epidemiološka analiza

V Sloveniji je bilo leta 2000 registriranih 90000 (4,5 %) sladkornih bolnikov in je tako primerljiva z drugimi evropskimi državami.

Leta 2004 je bila ocenjena prevalenca odkrite sladkorne bolezni 4,3 %, in sicer v zahodnem delu Slovenije 3,5 %, v osrednjem delu 4,5 % in v vzhodnem 4,6 %. Po oceni diabetologov je delež neodkritih bolnikov približno 50 %. Med moškimi je prevalenca 5,5 %, med ženskami pa 3,4 %. Najvišja je v starostni skupini 55 do 59 let (10 %),

Družbeno breme sladkorne bolezni tipa 2

Tabela IV: Ocena stroškov optimalne obravnave vseh SB2 v Sloveniji (v SIT)

Table IV: Cost estimation of optimal treatment for all diabetic patients in Slovenia (v SIT)

		NAČIN ZDRAVLJENJA			
		dieta	peroralni antidiabetiki	inzulini	SKUPAJ
število bolnikov s SB2		35%	40%	25%	
		59500	68000	42500	170000
št. smrtnih primerov	AMI	4	6	4	
	CVI	2	4	3	
neposredni medicinski	zdravila	681.712.325,00	1.179.818.700,00	922.838.625,00	2.784.369.650,00
	hospitalizacija	1.462.422.875,00	2.582.987.409,00	1.636.523.304,00	5.681.933.588,00
	zdravniški pregledi	31.201.800,00	161.275.328,00	169.171.828,00	361.648.956,00
neposredni nemedicinski	bolniški stalež	55.627.400,00	1.176.291.200,00	1.102.773.000,00	2.334.691.600,00
	SKUPAJ	2.230.964.400,00	5.100.372.637,00	3.831.306.757,00	11.162.643.790,00

najnižja pa v skupini 30 do 34 let (0,3 %). Približno 90 % SB je SB2. Incidenca SB2 je približno 4000 do 5000 novo odkritih bolnikov letno. Če k temu prištejemo še enkrat tolikšno incidenco neodkritih primerov, je bilo v letu 2005 več kot 150000 SB, točneje 8,6 % celokupnega prebivalstva, kar predstavlja 170000 bolnikov (podatek o številu prebivalstva je iz leta 2002, tj. 1.964.306, ker smo za to leto dobili podatke o letni porabi zdravil) (20).

Sladkorna bolezen je prisotna pri 11,7 % ljudi s povišanim krvnim tlakom, pri 10,8 % debelih ljudi in pri 4,9 % prekomerno prehranjenih (17).

Po podatkih iz leta 2003 prevalenca na Švedskem variira po posameznih regijah od 2,3 % do 5,8 %, najvišja pa je na podeželju s pretežno ostarelim prebivalstvom. Povprečna starost bolnika za SB2 je 68 let, delež žensk je 46 %. Trajanje bolezni ob odkritju je od 1 tedna do več kot 60 let, povprečna doba trajanja je ob ugotovitvi 10 let. SB2, ki traja več kot 30 let, ima na Švedskem 1 % SB. Večina SB (92 %) obiskuje zdravnika splošne prakse. V kliničnih ustanovah se zdravi 15 % bolnikov, 7,5 % bolnikov pa redno obiskuje endokrinologa (30). Tveganje za možgansko kapjo je na severnem Švedskem 18 % pri moških in 22 % pri ženskah ter za srčno kapjo 11 % pri moških in 17 % pri ženskah (31). Prevalenca mikrovaskularnih zapletov je višja pri moških (2,8 % vs 1,7 %). Diabetična nefropatija se pojavi pri približno 16 % SB tipa 2 v povprečnem obdobju 9 let trajanja SB2, od tega 77 % zboli za mikroalbuminurijo in 23 % za makroalbuminurijo. 71 % preiskovancev SB2 z diabetično nefropatijo ima hkrati tudi retinopatijo (32).

V letu 2002 je po ocenah približno 18,2 milijonov Američanov imelo sladkorno bolezen v obliki inzulinske rezistence (~ 6,3 % prebivalstva), od tega je bilo okoli 13 milijonov diagnosticiranih in 5,2 milijona nediagnosticiranih. Klinične raziskave so pokazale, da incidenca narašča zlasti med otroci in mladostniki nativnih in ne-belih ameriških skupnosti (ameriški Indijanci, Afroameričani, Hispanomeričani in ostali Latinoameričani) Tveganje za SB2 je tudi pri odraslih različno pri posameznih etničnih skupinah znotraj heterogene ameriške populacije. Raziskava iz leta 2000 je pokazala, da je tveganje pri Afroameričanih večje kot pri belcih, in sicer 1,5 krat večje pri moških in 2 krat večje pri ženskah. Pri plemenu Pima v Arizoni je incidenca SB2 19 krat večja kot pri beli populaciji, zvečana pa je tudi pri ostalih nativnih plemenih v Severni Ameriki in mehiških priseljencih

(33). Skupno je po ocenah v ZDA 8,7 milijonov moških in 9,3 milijonov žensk, ki trpijo za SB2 (34). Prevalenca MTG v ZDA je 13,4 milijone (15).

Epidemiološke značilnosti sladkorne bolezni in njenih zapletov v ZDA ter na Švedskem in v Sloveniji so prikazane v tabeli I.

Ker v Sloveniji nimamo nacionalnega registra SB, je točnejše spremljanje in vrednotenje števila vseh bolnikov praktično nemogoče. Podatki o prevalenci dejavnikov tveganja temeljijo na osnovi vprašalnika in niso rezultat kliničnega ugotavljanja prisotnosti teh dejavnikov (17). Če je incidenca v Sloveniji 4000 do 5000 letno in incidenca v Evropi 850000 letno, predstavlja porast v naši državi 0,47 % porasta v Evropi. Naraščanje števila obolelih je deloma odraz staranja prebivalstva, ki se kaže ne le pri nas temveč tudi v ostalih razvitih državah, deloma pa je povezan z načinom življenja, kot so slaba prehrana z veliko vsebnostjo enostavnih sladkorjev in maščob, pomanjkanje ustrezne telesne aktivnosti in prisotnost ostalih razvad, tj. kajenja in čezmernega uživanja alkoholnih pijač. Vidimo, da je debelost prisotna kar pri 82,2 % sladkornih bolnikov, ta številka pa je primerljiva z deležem debelih SB v ZDA in na Švedskem. Več kot polovica bolnikov ima povečan krvni tlak.

Farmakoepidemiološka analiza

Poraba zdravil za zdravljenje SB2 in njenih zapletov narašča praktično v vseh državah. V ZDA so v obdobju 1990-2001 opazili močan trend naraščanja predpisovanja PAD. Leta 1990 so zabeležili 23,4 milijonov zdravniških receptov, do leta 2001 pa je to število naraslo za 3,9 krat, tj. 91,8 milijonov receptov. Derivata sulfonilsečnine glipizid in glibenklamid zavzemata 35 % vseh predpisanih PAD, metformin 33 %, tiazolidindioni (rosiglitazon in pioglitazon), ki so v ZDA v rabi od leta 1999, pa 17 %. Med odraslimi z odkrito SB2 približno 12 % jemlje inzulin in PAD hkrati, 19 % inzulin, 53 % PAD, 15 % bolnikov pa ne uporablja nobene farmakoterapije. Od vseh bolnikov, ki se zdravijo za hipertenzijo, 22,4 % jemlje le eno zdravilo, 22,3 % dve zdravili, in 16,6 % tri ali več zdravil (34). Pri SB z monoterapijo je delež posameznih skupin zdravil naslednji: ACEi 39 %, zaviralci Ca-kanalčkov 27 %, diuretiki 18 % in α zaviralci (α B) 9 %. Ocenjujejo, da 5 do 10 % diagnosticiranih SB v ZDA ne hodi na zdravniške preglede ter ne prejema nikakršne terapije (34, 35).

Originalni znanstveni članki – Scientific articles

Na Švedskem se 19 % SB2 zdravi le z dieto, 60 % s PAD, 20 % z inzulinom, 12 % pa s kombinacijami insulina in PAD, med katerimi prevladujejo sulfonilsečnine (72 %), bigvanidi (22 %) in alfa glukozidazni inhibitorji (6 %). Dobro metabolično kontrolo so ugotovili pri 93 % bolnikov, ki se zdravijo le z dieto, pri 59 % bolnikov, zdravljenih s PAD, pri 50 % zdravljenih z inzulinom in pri 38 % tistih, ki jemljejo kombinacijo insulina in PAD (30).

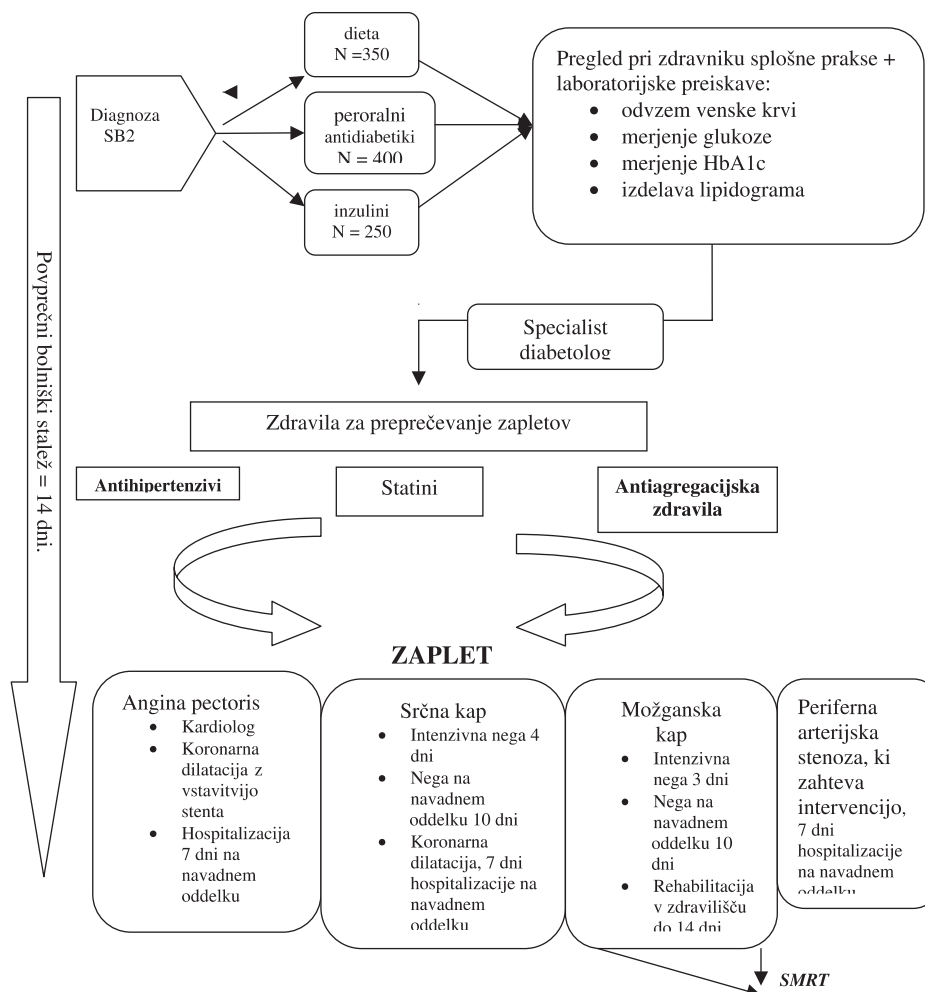
Rezultati porabe zdravil v Sloveniji so povprečje med letoma 2002 in 2003. Po našem izračunu se z inzulinom zdravi 1,2 % prebivalstva, kar pomeni 14 % SB. S PAD se zdravi 2,8 % prebivalstva, tj. 33 % SB, od tega se največji delež zdravi s sulfonilsečninami. Skupno torej le 47 % bolnikov prejema farmakoterapijo. Z ACEi ali AARII se zdravi 50 % odkritih SB, kar predstavlja 12,5 % celotne porabe teh zdravil. Z antiagregacijskimi zdravili se zdravi približno 75 % odkritih SB, 58 % antiagregacijskih zdravil se porabi za te bolnike. 39 % zdravljenih s statini je SB.

Poraba zdravil je prikazana v tabeli II. Prvi stolpec prikazuje število vseh izdanih receptov v letu 2002 oz. 2003. V drugem stolpcu je podan delež prebivalstva, ki se zdravi z dano skupino oz. z izbranim

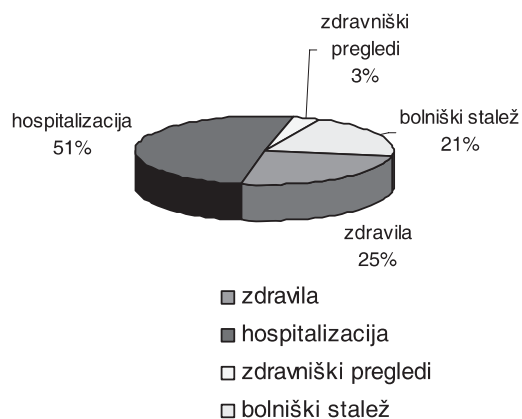
zdravilom, ki se najpogosteje predpisuje. V tretjem stolpcu so podane ocene diabetologov o deležu SB, ki se z dano skupino zdravi, npr. z zaviralci renin-angiotenzinskega sistema (RAS) naj bi se zdravilo 50 % odkritih SB2, kar predstavlja 2,15 % prebivalstva. Četrti stolpec prikazuje, kolikšen delež posameznih skupin zdravil porabijo SB.

Slika 1 prikazuje porabo posameznih skupin zdravil, izraženih z ATC/DDD metodologijo ter delež zdravil, ki jih porabijo SB v Sloveniji.

V Sloveniji bi vsi odkriti SB morali prejemati vsaj eno od oblik terapije. Po ocenah diabetologov bi se moralo 40 % SB s SB2 zdraviti s kontrolirano dieto, 35 % s PAD in 25 % z inzulinom, v odvisnosti od stopnje tveganja za srčnožilne zaplete pa bi morali prejemati tudi ostala zdravila. Če v Sloveniji le 47 % SB prejema farmakoterapijo in predpostavimo, da se z dieto optimalno zdravi 35 % bolnikov, kolikor bi se jih po ocenah diabetologov dejansko moralo, je v Sloveniji 18 % bolnikov, ki ne prejema nikakršne terapije. Ob tem je treba upoštevati, da je redna zdravniška kontrola osnovni pogoj za odkrivanje ne le SB, temveč tudi tistih ljudi z MTG, pri katerih je z ustreznimi ukrepi še možno preprečiti razvoj sladkorne bolezni.

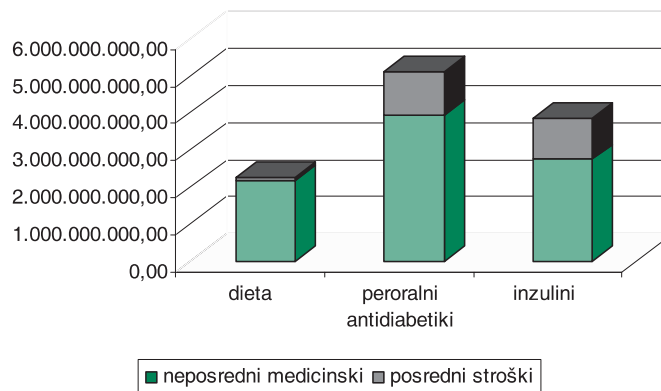


Slika 2: Odločitveno drevo za 1000 sladkornih bolnikov
Picture 2: Decision tree for 1000 diabetic patients



Slika 3: Prikaz deleža posameznih stroškov pri optimalni obravnavi vseh sladkornih bolnikov v Sloveniji

Picture 3: Distribution of costs for optimal treatment in all diabetic patients in Slovenia



Slika 4: Prikaz vrednosti posameznih stroškov v obravnavanih skupinah bolnikov (v SIT)

Picture 4: Values of optimal treatment costs in three groups of patients (in SIT)

Farmakoeekonomska analiza

Tabela III prikazuje razvrstitev 1000 SB po načinu zdravljenja, tj. z dieto, s peroralnimi antidiabetiki in z inzulinom ter število bolnikov, ki ob optimalni terapiji potrebuje tudi druge zdravstvene storitve in zdravila, v odvisnosti od kliničnih izidov. Pregled pri zdravniku splošne prakse in zdravnikih specialistih potrebujejo enkrat letno le bolniki v začetnih fazah razvoja bolezni, tj. zdravljeni z dieto, pri vseh ostalih pa so pogostejši pregledi nujni, in sicer 4 do v povprečju 4,5 krat letno. Optimalna terapija vključuje tudi odvzem venske krvi, merjenje koncentracije glukoze, glikiranega HbA1c in izdelavo lipidograma ob vsakem pregledu specialista.

Odločitveno drevo nam prikazuje optimalno obravnavo SB z možnimi kliničnimi izidi (slika 2). V tabeli IV so zbrani stroški obravnave SB. Sliki 3 in 4 prikazujeta porazdelitev posameznih vrst stroškov.

Če opredelimo celotne stroške iz treh skupin bolnikov, ki smo jih razdelili glede na način zdravljenja, vidimo, da je najdražja obravnava tistih, ki se zdravijo s PAD, saj je takšnih bolnikov največ. Optimalna obravnava vseh odkritih bolnikov, zdravljenih s PAD, stane približno 5 milijard SIT, bolnikov, zdravljenih z inzulinom, 3,8 milijarde SIT in pri bolnikih brez antihiperglikemične farmakoterapije okrog 2,2 milijarde SIT. Optimalno zdravljenje SB, ki se zdravijo le z dieto, stane 37.495,00 SIT/bolnika/leto, zdravljenje s PAD 75.000,00 SIT/bolnika/leto in zdravljenje z inzulinom 90.148,00 SIT/bolnika/leto.

Delež stroškov za zdravila je 25 %, za hospitalizacijo s pripadajočimi kirurškimi posegi 51 %, za zdravniške preglede 3 % ter za bolniški stalež 21 %. Delež stroškov za bolniški stalež in obiske pri zdravniku s pripadajočimi laboratorijskimi preiskavami je najmanjši v skupini, ki ne prejema farmakoterapevtske podpore k zdravljenju z dieto (skupno 3 %), največji pa je v skupini, zdravljeni z inzulinom (skupno 33 %). Zapleti sladkorne bolezni predstavljajo največji strošek zdravljenja, saj največji delež stroškov zavzema hospitalizacija zaradi zapletov. Optimalna obravnava vseh 170000 bolnikov v Sloveniji bi zahtevala 11,2 milijarde SIT, kar predstavlja 0,79 % BDP in 2,26 % javnih sredstev za zdravstvo. Letna optimalna obravnava povprečnega SB

stane 65.663,00 SIT. Ob tem je treba upoštevati dejstvo, da so zaradi zapletov, ki so pogosto posledica neustrezne obravnave SB, dejanski stroški zdravljenja zapletov pri le-teh še višji.

V okviru farmakoeekonomske analize smo vrednotili neposredne medicinske in posredne stroške, ne pa tudi ostalih stroškov, npr. zaradi invalidnosti ali prezgodnje smrti. SB2 pa je povezana tudi z velikim trpljenjem bolnika zaradi prizadetosti ali trpljenjem družine zaradi izgube bližnjega, zato je preventiva SB2 in njenih zapletov izrednega pomena za celotno družbo.

6. Sklepi

Prevalenca sladkorne bolezni tipa 2 narašča tako pri nas kakor tudi drugod v svetu, vendar problem preprečevanja zapletov sladkorne bolezni predstavlja pravočasno odkrivanje.

Najdražja je optimalna obravnava sladkornih bolnikov, ki se zdravijo s peroralnimi antidiabetiki.

Največji strošek zdravljenja predstavlja hospitalizacija zaradi kroničnih zapletov.

7. Viri

1. L Niskanen, T Hedner: Reduced Cardiovascular Morbidity and Mortality in Hypertensive Diabetic Patients on First-line therapy With an ACE Inhibitor Compared With a Diuretic/Beta-blocker Based Treatment Regimen: A Subanalysis of the Captopril Prevention Project Diabetes, 2001; 24(12): 2091-2096
2. P Hildebrandt: Diabetic Patients and Acute Coronary Syndromes. European Heart Journal, Vol. 22, issue 11, 2001 Jun: 887-888
3. R J Woodman, G T Chew, G T Watts: Mechanisms, Significance and Treatment of Vascular Dysfunction in Type 2 Diabetes Mellitus. Drugs, 2005; 65(1): 31-74
4. E Ragucci, J Zonszein, W H Frishman: Pharmacotherapy of Diabetes Mellitus: Implication for Prevention and Treatment of Cardiovascular Disease. Heart Dis, 2003; 5(1): 18-33

Originalni znanstveni članki – Scientific articles

5. ESC Committee for Practice Guidelines: European Guidelines on CVD Prevention, Executive Summary. Third Joint European Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice; 2003
6. M Medvešček, F Mrevlje, M Koselj: Sladkorna bolezen tipa 2: Priročnik za zdravnike. Ljubljana-samozaložba, 2005; 616.379-008.64(035)
7. P Zimmet, J Shaw: Preventing Type 2 Diabetes and the Dysmetabolic Syndrome in the Real World: a Realistic View. *Medscape Diabetes & Endocrinology*, 2003 (20): 693-702 (2003)
8. C J Pepine, R M Cooper-DeHoff: Cardiovascular Therapies and Risk for Development of Diabetes. *Journalism Assn of Community College* Vol. 44, No. 3, 2004, August 4, 2004: 509-12
9. A M Wägner, A Martinez-Rubio: Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease, *European Journal of Internal Medicine*, 2002 (13): 15-30
10. B V Howard: Prevention Conference VI: Diabetes and Cardiovascular Disease, Writing Group VI: Epidemiology. *American Heart Association*, 2002: 105:e132-e137
11. D J Betteridge: The Interplay of Cardiovascular Risk Factors in The Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes. *European Heart Journal Supplements*, 2004 (6) (Supplement G) G3-G7
12. R Gadsby: Epidemiology of Diabetes. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2002 (54): 1165-1172
13. L E Egdege, D Zheng: Modifiable Cardiovascular Risk Factors Common in Diabetic Adults. *Archives of Internal Medicine*, 2002 (162): 427-433
14. S M Grundy: Prevention Conference VI: Diabetes and Cardiovascular Disease, Executive Summary. *American Heart Association*, 2002 (105): 2231-2239
15. American Diabetes Association: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, Volume 28, Supplement, January 2005
16. National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III NCEP-ATPIII; American heart Association, 2003
17. L Zaletel-Kragelj, Z Fras, J Maučec-Zakotnik: Tveganja vedenja, povezana z zdravjem in nekatera zdravstvena stanja pri odraslih prebivalcih Slovenije-I. Značilnosti in povzetek rezultatov raziskave. Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Katedra za javno zdravje, 2004
18. Medicines Consumption in the Nordic Countries 1999 – 2003, Nordic Medico Statistical Committee 2004 - NOMESCO (<http://www.nom-nos.dk/>)(17.7.2005)
19. <http://www.diabetes.org/diabetes-statistics.jsp> (19.7. 2005)
20. <http://www.stat.si> (9.avg., 2005)
21. www.med.over.net/ (19. avg.,2005)
22. M M C Hovens, J T Tamsma: Pharmacological Strategies to Reduce Cardiovascular Risk in Type 2 Diabetes Mellitus. *Drugs*, 2005; 65(4):433-445
23. S L Konzem: Controlling Hypertension in Patients with Diabetes. *American Family Physician*, Oct 1, 2002/Vol. 66, No 7: 1209-1214
24. B Weaber, F Fiehl, L Ruilope: Diabetes and Hypertension. *Blood pressure*, 2001 (10): 311-321
25. L Niskanen, T Hedner: Reduced Cardiovascular Morbidity and Mortality in Hipertensive Diabetic Patients on First-line therapy With an ACE Inhibitor Compared With a Diuretic/Beta-blocker Based Treatment Regimen: A Subanalysis of the Captopril Prevention Project. *Diabetes*, 2001; 24(12): 2091-2096
26. G L Barkis: Role for â-blockers in the Management of Diabetic Kidney Disease. *American Journal for Hypertension*, 2003; 16:7S-12S
27. C J Pepine, R M Cooper-DeHoff: Cardiovascular Therapies and Risk for Development of Diabetes. *Journalism Assn of Community College*. Vol. 44, No. 3,2004, August 4, 2004; 509-512
28. S Vijan, R A Hayward: Treatment of Hypertension in Type 2 Diabetes Mellitus: Blood Pressure Goals, Choice of Agents and Setting Priorities in Diabetes Care. *Annals of Internal Medicine*, 2003; 138: 593-602
29. L M Fornkvist, M Lundman: Outcomes od Diabetes care: A Population Based Study. *International Journal of Quality in health Care*, 2003, Volume 15, Number 4: 301-307
30. M Eliason, V Lindahl, V Lundverg, B Stegmayr: Diabetes and obesity in Northern Sweden: occurrence and risk factors for stroke and myocardial infarction. *Scandinavian Journal for Public Health Supplementation*, 2003 (61): 70-77
31. M Svensson.: Signs of Nephropathy May Occur Early in Young Adults With Diabetes Despite Modern Diabetes Management. *Diabetes Care*, 2003 (26): 2903-2909
32. Epidemiology and Disease Pathology of Type 2 Diabetes <http://www.caringfordiabetes.com> (Aug., 2005)
33. E Wändell and C Gófvéls: Patients with Type 2 Diabetes Aged 35-64 Years at Four Primary Health Centres in Stockholm County, Sweden- Prevalence and complications in relation to gender and socio-economic status. *Training Centre for Diabetes (LUCD)*, 2003
34. D K Wysowski, G Armstrong: Rapid Increase in the Use of Oral Antidiabetic Drugs in the United States, 1990-2001. *Diabetes Care*, Jun 2003; 26(6): 1852-1855
35. G L. Barkis: Role for â-blockers in the Management of Diabetic Kidney Disease. *American Journal for Hypertension*, 2003; 16:7S-12S

Novice iz sveta farmacije

Urejšajo: dr. Andrijana Tivadar, dr. Petra Slanc, Marjetka Smolej, dr. Bojan Doljak, prof. dr. Borut Štrukelj

Dodatni previdnostni ukrepi pri uporabi učinkovine oseltamivir

Bojan Doljak

FDA in farmacevtska družba Roche Laboratories Inc., sta 13. novembra letos obvestila strokovno zdravstveno javnost o popravku v povzetku značilnosti za oseltamivir (Tamiflu®). V postmarketinških študijah o uporabi učinkovine oseltamivir so odkrili, da se lahko pojavijo nekatere motnje v obnašanju. Novica prihaja z Japonske, kjer je uporaba oseltamivira največja. Ocenjujejo, da je bilo samo v sezoni 2004/05 na Japonskem 16 milijonov primerov gripe, od teh naj bi kar 6 milijonov ljudi jemalo oseltamivir. Kot poroča Roche, so si nekateri bolniki z gripo, zlasti otroci, ki so prejeli oseltamivir, zadajali rane in celo zapadali v nekakšen delirij. Podrobnosti glede tega in števila primerov sicer niso razkrili, je pa glede na omenjeno dopolnitev povzetka značilnosti očitno, da verjetno ni šlo za osamljen primer. V ZDA bo zato odslej potrebno bolnike z gripo, ki jemljejo oseltamivir, opazovati in v primeru pojavitve omenjenih nevropsihičnih motenj takoj obvestiti zdravnika. Revidirano in dopolnjeno je tudi navodilo za bolnike. Vzročna povezanost med novimi neželenimi učinki in učinkovino oseltamivir še ni z gotovostjo dokazana, prav tako tudi ni znan mehanizem takšnega delovanja.

Oseltamivir ima dovoljenje za promet v ZDA od leta 1999, v Evropi pa od leta 2002. Oseltamivir je protivirusna učinkovina, ki deluje specifično na virus gripe, saj zavira encime nevraminidaze na virusni površini. Ko so nevraminidaze zavrite, virus ne more ustvarjati novih delcev in tako se okužba ne širi dalje. Oseltamivir deluje na nevraminidaze virusov influence A (najpogostejši) in influence B. Še vedno je glavna preventivna strategija pred sezonsko gripo cepljenje, ki ga oseltamivir ne more nadomestiti. Proti gripi cepijo z inaktiviranimi virusi influence (trivalentna vakcina) ali z živimi oslavljenimi virusi (atenuirana vakcina) intranazalno. Pri atenuiranih virusih obstaja nevarnost interakcije z oseltamivirom na nivoju podvojevanja, zato takšnega načina cepljenja ne priporočajo v obdobju 2 tednov pred do 48 ur po jemanju oseltamivira. Eden izmed podtipov virusa influence A je tudi H5N1, bolj znan kot virus ptičje gripe. Raziskovalci poročajo, da je oseltamivir na živalskih modelih gripe učinkovit tudi proti temu podtipu virusa influence A, ki se normalno ne prenaša na človeka, lahko pa bi se začel prenašati, če bi prišlo zaradi mutacij do spremembe antigenov na virusni površini. V takšnih primerih trenutna cepiva najverjetneje ne bi bila učinkovita.

V študijah zdravljenja gripe pri ljudeh (2413 odraslih in mladostnikov, 741 starejših bolnikov, 1033 otrok, vključno z otroci s kronično astmo) so oseltamivir primerjali s placebo pripravo. Učinkovitost so merili

z uporabo točkvalne kartice, kamor so bolniki beležili svoje simptome (vročina, bolečine v mišicah, glavobol, boleče žrelo, splošno slabo počutje in izcedek iz nosu). Oseltamivir so preučevali pri bolnikih, ki so bili izpostavljeni bolezni, ko se je eden od družinskih članov okužil z gripo (962 primerov), ali med epidemijo (1562 sodelujočih, 548 starejših ljudi v domovih starejših občanov). V teh študijah so merili število primerov gripe, dokazanih z laboratorijskimi preiskavami. V eni od študij so preučevali tudi uporabo oseltamivira v družinskem okolju (277 družin) tako za zdravljenje okuženih z gripo kot tudi za zdravljenje ali preprečevanje gripe pri tistih, ki so bili v stiku z okuženim članom družine. V študijah zdravljenja pri odraslih je oseltamivir skrajšal trajanje bolezni s 5,2 dni pri bolniku, ki je jemal placebo pripravek, na 4,2 dni pri bolniku, ki je jemal oseltamivir. Skrajšanje trajanja bolezni pri otrocih, starih od 1 do 6 let, je bilo 1,5 dneva. V študijah preprečevanja je oseltamivir zmanjšal pogostost gripe pri ljudeh, ki so bili v stiku z osebo, obolelo za gripo (v študiji, izvedeni med epidemijo, je 1,2 % bolnikov, ki so jemali oseltamivir, po stiku z okuženim zbolelo za gripo, v primerjavi s 4,8 % tistih, ki so prejeli placebo pripravek). V družinah z enim članom, obolelim za gripo, je 7 % družinskih članov v gospodinjstvu zbolelo za gripo ob prejemanju preventivnega zdravljenja z učinkovino oseltamivir, v primerjavi s 20 % obolelih, ki niso prejeli preventivnega zdravljenja. Najpogostejši neželeni učinki, ki so jih opazili pri 1 do 10 % bolnikov, ki so jemali oseltamivir so slabost, bruhanje in bolečine v trebuhu.

Vira:

Novica objavljena 13. novembra 2006:

www.medscape.com/viewarticle/547783

Evropsko javno poročilo o oceni zdravila (EPAR):

<http://www.emea.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/oseltamivir/seltamivir.htm>

Ibuprofen lahko zmanjša zaščitne učinke acetilsalicilne kisline

Andrijana Tivadar

Septembra 2006 je ameriška Agencija za hrano in zdravila (FDA) objavila opozorilo glede hkratnega jemanja nesteroidnega antirevmatika (NSAR, angl. NSAID - nonsteroidal anti-inflammatory drug) ibuprofena in acetilsalicilne kisline. V *ex vivo* raziskavah na ljudeh je bilo namreč dokazano, da ob hkratnem jemanju acetilsalicilne kisline (odmerek acetilsalicilne kisline 81 mg, oblika s takojšnjo sprostitvijo učinkovine) in ibuprofena, slednji vpliva na antitrombotično delovanje acetilsalicilne kisline. V obvestilu za

Novice iz sveta farmacije

zdravstvene delavce in bolnike, ki jemljejo nizke odmerke acetilsalicilne kisline z namenom preprečevanja srčno-žilnih bolezni, je zapisano, da ibuprofen lahko vpliva na antitrombotični učinek acetilsalicilne kisline, in sicer tako, da zmanjša njeno učinkovitost. Za lažje razumevanje obvestila ponovimo nekaj osnov.

NSAR različno močno zavirajo encima ciklooksigenazo 1 (COX-1) in ciklooksigenazo 2 (COX-2) ter predvsem z zaviranjem COX-2 blažijo bolečino in vnetje ter znižujejo telesno temperaturo, saj preprečujejo nastanek vnetnih prostaglandinov iz arahidonske kisline. Uporabljamo jih kot protivnetna in protibolečinska zdravila pri revmatskih boleznih, po poškodbah in operacijah, pri bolečini zaradi raka na vseh treh stopnjah zdravljenja po priporočilih Svetovne zdravstvene organizacije, pri dismenoreji, glavobolu, zobobolu in ostalih bolečinah. Zaviranje COX-1 povzroča neželene učinke na prebavilih in preprečuje trombembolične zaplete.

Ibuprofen je nesteroidni antirevmatik iz skupine derivatov propionske kisline. Med konvencionalnimi NSAR je ibuprofen tisti, pri katerem je relativna nevarnost za nastanek hudih zapletov na prebavilih (perforacije in krvavitve v želodcu in dvanajstniku) najmanjša. Vrstni red NSAR glede na naraščajočo relativno nevarnost za nastanek hudih neželenih učinkov na prebavilih je pravzaprav naslednji: ibuprofen < diklofenak < naproksen < indometacin < piroksikam < ketoprofen.

Acetilsalicilna kislina je derivat salicilne kisline (običajno obravnavamo acetilsalicilno kislino ločeno od NSAR). Acetilsalicilna kislina ravno tako deluje analgetično, antipiretično in protivnetno, izrazito zaviralno pa učinkuje tudi na agregacijo trombocitov.

Trombociti izločajo tromboksan A₂ s pomočjo lastne COX 1. Tromboksan je močan vazokonstriktor in ima proagregacijsko delovanje. Acetilsalicilna kislina, ki selektivno zavira COX 1, preprečuje agregacijo trombocitov in ščiti bolnike pred ishemičnimi dogodki, zato se zelo pogosto uporablja za preprečevanje srčno-žilnih bolezni. Ibuprofen reverzibilno zavira ciklooksigenazo v trombocitih, medtem ko jo acetilsalicilna kislina zavira ireverzibilno. Ireverzibilno zaviranje ciklooksigenaze je še posebej izrazito pri trombocitih, ker trombociti ne morejo ponovno sintetizirati tega encima. Pri vplivu ibuprofena na antitrombotični učinek acetilsalicilne kisline gre torej za kompetitivno inhibicijo ciklooksigenaze v trombocitih, saj obe učinkovini zasedata bližnja mesta na COX. Ko se bo reverzibilno vezan ibuprofen sprostil iz vezavnega mesta na COX, acetilsalicilne kisline, ki bi ireverzibilno inhibirala COX, ne bo več v krvnem obtoku.

FDA priporoča bolnikom, da se o časovnem režimu jemanja omenjenih zdravil posvetujejo z zdravnikom ali farmacevtom, pri čemer posebej nagovarja zdravstvene delavce, da bolnikom svetujejo naslednje: Acetilsalicilna kislina ima dolgotrajen učinek na trombocite, zato je malo verjetno, da bi občasno kratkotrajno jemanje ibuprofena vplivalo na antitrombotični učinek nizkih odmerkov acetilsalicilne kisline. Bolniki, ki jemljejo hitrodelujoče zdravilo z acetilsalicilno kislino (neobložene tablete), naj vzamejo zdravilo z ibuprofenom vsaj pol ure ali več po zaužitju zdravila z acetilsalicilno kislino ali več kot 8 ur pred acetilsalicilno kislino. Priporočila glede hkratnega jemanja ibuprofena in acetilsalicilne kisline v obliki zdravila z gastrozistentno oblogo ni mogoče oblikovati na osnovi obstoječih podatkov, saj je bilo ugotovljeno, da 400 mg ibuprofena vpliva na antitrombotični učinek

acetilsalicilne kisline, ne glede na to, ali ibuprofen vzamemo 2, 7 ali celo 12 ur po zdravilu z nizkim odmerkom acetilsalicilne kisline z gastrozistentno oblogo. Ostale neselektivne nesteroidne antirevmatike brez recepta je potrebno obravnavati tako, kakor da potencialno vplivajo na antitrombotični učinek acetilsalicilne kisline, razen ko je dokazano drugače. Analgetiki, ki ne vplivajo na antitrombotični učinek nizkih odmerkov acetilsalicilne kisline, npr. acetaminofen in narkotiki, se lahko uporabljajo pri bolnikih z visokim tveganjem za srčnožilne bolezni.

Viri:

www.medscape.com

www.fda.gov

N. Krčevski-Škvarč, J. Rozman-Marčič, M. Ivanuša. Zdrav Vestn 2001; 70: 405–413.

Prihajajo nova biološka zdravila za zdravljenje Chronove bolezni

Bojan Doljak

Na tržišče bodo najverjetneje že v naslednjem letu prišla nova biološka zdravila za zdravljenje Chronove bolezni, ki so trenutno nekeje med 2. in 3. fazo kliničnih testiranj. To so certolizumab, adalimumab in natalizumab, medtem ko je bilo biološko zdravilo infliximab v terapijo zmerne do hude oblike Chronove bolezni prvič vpeljano že leta 1998. Končnico mab so učinkovine dobile, ker so to monoklonska protitelesa (ang. **monoclonal antibodies**), pridobljena iz enega samega klona limfocita B, ki ta protitelesa izraža na svoji celični površini.

Kronično vnetje črevesja, bolj znano pod imenom Chronova bolezen, katere incidenca tudi v Sloveniji strmo narašča. Najpogosteje se pojavi med 15. in 25. letom starosti. Ime je bolezen dobila po ameriškem enterologu z imenom Burrill Bernard Crohn, ki je prvi objavil članek z opisom te bolezni leta 1932. Chronova bolezen lahko prizadene različne predele tankega in debelega črevesja. Simptomi, po katerih prepoznamo Chronovo bolezen so malabsorpcija, anemija, vročina, izguba telesne mase, krvavitev iz črevesja in prebavne motnje (diareja, abdominalne bolečine). Vzrok bolezni še ni pojasnjen, znano pa je, da je pri kroničnem vnetju udeleženih več vrst celic, med katerimi so predvsem limfociti T (celice pomagalke), ki regulirajo normalen imunski odziv v steni prebavil. Hrana, ki jo uživamo vsak dan, vsebuje določene antigene, ki v stiku s črevesno sluznico lahko sprožijo imunski odziv. V steni prebavil se nahajajo celice T pomagalke tipa 2, ki izločajo nekatere peptidne hormone - citokine, ki zavirajo imunski odziv. Za razliko, pri Chronovi bolezni prevladujejo druge vrste citokinov (tumorski nekrozn faktor alfa - TNF- α , interferon γ , interleukini), ki povzročajo neprestano vnetje in jih izločajo celice T pomagalke tipa 1. V sluznici pride zaradi delovanja omenjenih citokinov do kopičenja še drugih imunskih celic (levkocitov: nevtrofilcev, eozinofilcev). Zaradi tega, je Chronova bolezen opredeljena kot avtoimuna. Kadar je bolezen bolj izražena, govorimo

o aktivni fazi te bolezni. Standardna terapija izbora za zdravljenje aktivne faze bolezni so kortikosteroidi, v kombinaciji z aminosalicilati in antibiotiki. Za obvladovanje Chronove bolezni pa se uporabljajo še imunomodulatorji, kot sta azatioprin in 6-merkaptopurin, ki lahko potrebujejo tudi do 4 mesece preden učinkujejo. Odzivnost na zdravljenje s kortikosteroidi je sicer dobra (50-70 %), vendar pa remisija bolezni ne traja dolgo. Poleg tega imajo kortikosteroidi številne neželene učinke, vključno s porastom telesne mase, nastankom sive mreže in osteonekroze.

Vpeljava bioloških zdravil v paradigmo zdravljenja Chronove bolezni pomeni dodatne in sinergistične pozitivne učinke v primerjavi s standardno terapijo. Prvo, za zdravljenje Chronove bolezni, vpeljano biološko zdravilo - infliksimab je bilo himerno protitelo, kar pomeni, da je bil del molekule humanega izvora, del molekule pa je izviral iz drugega organizma, v katerem so bila protitelesa proizvedena (npr. miške). Mehanizem delovanja protitelesa je prepoznavanje TNF- α in prerečitev njegove vezave na receptorje za TNF- α . Na ta način protitelesa inhibirajo vnetno delovanje TNF- α v steni prebavil. Že v začetni multicentrični dvojno slepi klinični študiji z učinkovino infliksimab je bila odzivnost bolnikov zelo visoka (81%) v primerjavi s placebo pripravkom (17 %). Pri dolgotrajnejšem zdravljenju z vzdrževalnim odmerkom 5 mg/kg infliksimaba vsake 2 meseca je bilo po enem letu še vedno 36 % bolnikov, pri katerih so bili izraženi pozitivni klinični učinki (zmanjšanje indeksa bolezni, glede na točkovanje CDAI - Chron's disease activity index), medtem ko je do remisije bolezni prišlo pri 28 % bolnikov v primerjavi s 15 % bolnikov v placebo skupini.

Nova biološka zdravila certolizumab, adalimumab in natalizumab pa so popolnoma humanizirana monoklonska protitelesa; certolizumab (PEGiliran Fab fragment proti TNF), adalimumab (protitelo proti TNF- α) in natalizumab (protitelo proti alfa-4 integrinom). Samo v zadnjih dveh letih so objavili rezultate 3 novih kliničnih študij za certolizumab in 2 študiji za adalimumab. Prav tako je tudi natalizumab uspešno zaključil 3. fazo kliničnih testiranj. V vseh primerih so bili pozitivni učinki signifikantni v primerjavi z učinki placebo pripravka.

Vir:

Novica objavljena 9. novembra 2006 na
<http://www.medscape.com/viewarticle/546727>

Nič več vrtnja zob - nov pristop preprečevanja zobnega kariesa

Marjetka Smolej

Skupina raziskovalcev iz ameriškega raziskovalnega centra *National Institute of Dental and Craniofacial Research* je sporočila, da so razvili novo obliko protimikrobnega zdravljenja, ki odkrije in uniči ustne bakterije, odgovorne za nastanek kariesa, ne vpliva pa na ostale bakterije.

Eksperimentalno zdravljenje se imenuje STAMP, ki je akronim za »specifically targeted antimicrobial peptides« oz. tarčno specifične

protimikrobne peptide, za katere je značilna dvostranska struktura. En del molekule predstavlja kratko zaporedje feromona, ki je za določeno bakterijo tako edinstveno kot prstni odtis in omogoča, da se STAMP veže na tarčne bakterije. Drugi del molekule pa sestavlja majhna protimikrobna bomba, kovalentno vezana na feromon, ki bakterijo uniči.

Medtem ko je znanstvenikom v preteklosti že uspela metoda ciljanja na določeno bakterijo, je to poročilo edinstveno zaradi same zgradbe STAMP. V splošnem so sestavljeni iz manj kot 25 aminokislin, kar je relativno malo v primerjavi z ogromnimi protitelesi, ki so jih znanstveniki uporabljali do sedaj. Prav zaradi svoje zgradbe jih je mogoče dokaj enostavno in hitro pripraviti.

Prva generacija STAMP se je v laboratoriju izkazala za izredno učinkovito. Znanstveniki so poročali, da lahko iz oralnega biofilma v 30 sekundah odstranijo bakterijo *Streptococcus mutans*, ki je povezana z nastankom zobnega kariesa, ob tem pa ne poškodujejo ostalih mikroorganizmov v bližini. Biofilmi so kompleksne, večslojne skupine mikrobov, ki spontano nastanejo na naših zobeh in organih v telesu. Po nekaterih ocenah, bi bili lahko biofilmi vpleteni v več kot 80 odstotkov infekcij pri ljudeh.

Znanstveniki s kalifornijske univerze so *S. mutans* STAMP že uporabili tudi v študijah na človeku, kjer so STAMP uporabili kot sestavino zobne paste ali ustne vode.

Istočasno so razvili tudi druge dentalne STAMP, ki ciljajo na specifične oralne mikrobove, vpletene v periodontalne bolezni.

Standardni načini boja proti bakterijskim infekcijam so: cepljenje, antibiotična terapija in ali higiena. Ti načini predstavljajo tri največja javnozdravstvena odkritja 20. stoletja, vendar ima v ustih vsak od njih določene omejitve. S cepljenjem lahko v krvi povzročimo tvorbo protiteles proti *S. mutans*, vendar pa je v ustih naša prirojena odpornost precej manjša. Pri antibiotikih in standardni ustni higieni pa je glavni problem pomanjkanje selektivnosti. V ustih živi vsaj 700 bakterijskih vrst, patogene bakterije so pomešane z nepatogenimi. Standardno zdravljenje odstrani vse bakterije, vendar pa je problem v tem, da ponovno najprej zrastejo patogene.

Poraja pa se tudi vprašanje kaj se bo zgodilo, če bakterijo *S. mutans* popolnoma odstranimo iz oralnega biofilma. Znanstveniki trdijo, da najdemo odgovor v naravi sami. Okrog 10 do 15 odstotkov ljudi namreč v svojem biofilmu nima bakterije *S. mutans* in nima nikakršnih težav. Poleg tega bakterija *S. mutans* v biofilmu ni dominantna vrsta, problematična postane le, če uživamo prevelike količine ogljikovih hidratov.

Vir:

<http://www.nidcr.nih.gov/NewsAndReports/NewsReleases/STAMP.htm>

Osebnosti

V spomin na Vido Vučič, mag.farm.



V začetku letošnjega novembra smo se poslovili od naše kolegice Vide Vučič. Praznino, ki ostaja za njo, bomo poskušali napolniti z mnogimi spomini nanjo.

Magistra Vida se je rodila 1.12.1932 v Slovenj Gradcu, mami Antoniji Proje. Svoja otroška leta je večji del preživela pri teti Kristini na Šentjanžu nad Dravčami pri Vuzenici. Po končani osnovni šoli je bila v prvi generaciji dijakov, ki so obiskovali

novoustanovljeno Gimnazijo na Ravnah. Na fakulteti za farmacijo v Zagrebu je diplomirala v juniju 1958. Po končanem pripravništvu se je zaposlila v domačem kraju, lekarni Radlje ob Dravi. Upravnik lekarne je bil tisti čas magister Vladimir Tomić, zelo poznan in priznan

lekarnar. Po njegovi upokojitvi v letu 1963, je magistra Vida postala upravnica – vodja lekarne v Radljah. S tem je nase prevzela vso odgovornost za oskrbo prebivalcev Radelj in širše okolice z zdravili in organiziranjem dežurne službe. Vodja lekarne je bila več kot 30 let, vse do svoje upokojitve v začetku leta 1995.

Njena prva skrb ves ta čas je bila lekarna in njeni pacienti, njeni sokrajani, velikokrat tudi na račun prostega časa in celo dopusta. Magistra Vida je znala prisluhniti ljudem, ki so prihajali v lekarno, jim priskrbeti ustrezna zdravila, velikokrat pa je bil zelo dobrodošel tudi njen nasvet. Magistra Vida je vso svojo poklicno kariero posvetila lekarni Radlje. S svojim delom je na nek način nadaljevala pot dominikanskih lekarnaric iz samostana v Radljah, ki so okoliške ljudi z zdravili oskrbovale že v 18. stoletju.

Mag. Vida je s svojim delom prispevala k razvoju in ugledu Koroške lekarne in mesta Radlje. Pustila nam je veliko lepih spominov in radi se je bomo spominjali.

*V imenu sodelavcev Koroških lekarn
Irena Pušnik*

Iz društvenega življenja

66. kongres FIP

Jelka Dolinar

66. kongres FIP-a je potekal od 25. do 31. avgusta 2006 v Salvadorju v Braziliji. Osrednja tema kongresa je bila »Novosti pri oskrbi bolnika«.

Slovenci smo sodelovali s 4 posterji. Kolegice iz Lekarne Žalec so predstavile svoj računalniški program odkrivanja klinično pomembnih interakcij med zdravili na recept s pomočjo računalniške baze, ki so jo sami izdelali. Kolegice iz Celjskih lekarn so pripravile dva posterja na temo odvajanja od kajenja. V Lekarni Ljubljana pa so analizirali tveganja v zvezi z interakcijami med zdravili, ki se redkeje predpisujejo na recept in tistimi, ki so jih bolniki kupili brez recepta.

Tradicionalno je bil kongres lekarniško usmerjen, s poudarkom na uvajanju novih tehnoloških orodij v lekarnah, vlogi lekarn v sistemu e-zdravja, med farmacevtskimi vsebinami je največ pozornosti vzbudila tema o bioloških zdravilih, ki jo je pripravila Akademsko sekcija pri FIPu. Predstavili so vizijo razvoja bioloških zdravil, v povezavi s tem razvoj nanotehnologij, problematiko kliničnih preskušanj, ki že potekajo in posebnosti v postopku registracije teh zdravil. Shranjevanje, čiščenje, transport izdelkov, izdajanje in tudi uničevanje bioloških zdravil predstavlja veliko odgovornost in farmacevtom nalaga obveznost, da razvijejo standardne operacijske postopke za upravljanje z biološkimi zdravili. Kmalu lahko pričakujemo, da se bodo pojavile tudi kopije originalnih rekombinantnih proteinskih zdravil t.i. »biosimilars«, zlasti zaradi visokih cen originalnih zdravil, ki zavirajo široko porabo. V ZDA znaša poraba generičnih zdravil 51 %, zanje pa porabijo komaj 7 % vseh stroškov za zdravila. Kopije bioloških zdravil bodo to strukturo zagotovo porušile!

V okviru tem s področja lekarniške prakse so odmevale besede: organizacija dela, izobraževanje, motivacija. Prof. Martin Schultz, zaposlen pri ABDI in sodelavec Fakultete za farmacijo v Berlinu, je predstavil izzive, ki se jim bodo morali prilagoditi lekarniški farmacevti, če bodo želeli obstati na trgu dela. Izpostavil je ekonomski in strokovni vidik. Na spremembe bodo vplivali monopolni položaj lekarn, verige in poslovni interesi lastnikov lekarn, padajoče vrednosti lekarniških marž (ki se v tujini gibljejo med 15 – 35 % maloprodajne cene), nove strategije zavarovalnic, konkurenčna ponudba zdravil preko spleta, po drugi strani prihajajo na trg nova zdravila, ki zahtevajo individualno odmerjanje, večja se tudi ponudba zdravil brez recepta.

Problematika plačevanja farmacevtske skrbi oz. drugih storitev v lekarni, da bi zaposlene bolj motivirali, je bila prisotna v mnogih predavanjih. Obstaja premalo študij, s katerimi bi lahko dokazali, da izvajanje farmacevtske skrbi niža stroške zdravljenja oz. zmanjšuje

število zapletov v zvezi z zdravili. Veliki napredek bi dosegli, če bi se odnos družbe do lekarniškega farmacevta spremenil. Pogoji za to je sistematična sprememba okolja v smislu večje zasebnosti ob izdaji zdravil, v ločenem prostoru ter bolj profesionalni pristop do bolnika. Po nekaterih analizah kar 25 do 50 % bolnikov ne jemlje zdravil skladno z navodili. V Nemčiji so ugotavljali, kako izboljšati merjenje sladkorja v krvi pri sladkornih bolnikih. Študija je zajela 462 bolnikov z diabetesom tipa 2, ki so jih spremljali v 32 različnih javnih lekarnah, specializiranih za farmacevtsko skrb za diabetes. Ugotovili so, da imajo že minimalne intervencije lekarniških farmacevtov lahko zelo pozitivne učinke in izboljšajo učinkovitost zdravljenja.

Hiter razvoj medmrežja in enostavna dostopnost do podatkov o zdravju in zdravilih se odraža v večji osveščenosti potrošnikov, krepi pa tudi zavest odgovornosti za lastno zdravje. Najhitreje narašča uporaba Interneta na Kitajskem. Ugotavljajo, da 76 % uporabnikov medmrežja išče podatke preko Googla, zelo pogosto o zdravju in zdravilih. Informacije so strokovno nepreverjene, bolnike pogosto zmedejo, vlijejo preveč upanja ali pa jih prestrašijo. Pričakovanja potrošnikov, pa tudi bolnikov v veliki meri kroji tudi agresivno oglaševanje. Proizvajalci zdravil in zdravstvene ustanove se zavedajo, da je dobra informacija samo tista, ki jo uporabnik dobro razume in je namenjena njemu osebno. Bolnik dobi v ambulanti in lekarni običajno malo podatkov o zdravilu, ki mu ga je zdravnik predpisal, pa še tiste hitro pozabi. Navodila za uporabo zdravil, ki so priložena v ovojnicah, so po mnenju uporabnikov neustrezna, navajajo preveč stranskih učinkov in interakcij ter so preveč splošna. To bolnike vspodbuja, da iščejo preko medmrežja dodatne informacije, ki so prilagojene njegovim potrebam. Analize o kakovosti spletnih strani o zdravilih za potrošnike v ZDA kažejo, da imajo lekarne, ki delujejo v povezavi s klasično lekarno, za potrošnike najbolj primerne spletne strani.

Predstavljeni so bili modeli različnih ponudnikov spletnih strani o zdravilih, namenjeni laični in strokovni javnosti, med njimi ameriški Medication Guide, angleški Medicine Guides, nizozemski Pharmakon. Na Nizozemskem so začeli poskusno uvajati sistem osebnega informiranja bolnikov s posebej zanj natisnjenim lističem o zdravilu, ki vsebuje ključne podatke, ki jih mora bolnik poznati. Prizadevajo si, da bi bila informacija za bolnika prijazna z vidika razumevanja vsebine in oblike obvestila (preglednost podatkov, obseg podatkov, velikost črk). Anketa, ki so jo izvedli med 2065 kroničnimi bolniki, je pokazala, da večina bolj upošteva natisnjena navodila o jemanju zdravil, kakor ustmene informacije, ki jih dobijo pri zdravniku ali farmacevtu.

Prodaja zdravil preko medmrežja narašča povsod po svetu. Največjo prednost pri tem predstavlja nižja cena zdravil in večja zasebnost, ki je klasične lekarne ne nudijo, narašča pa tudi nevarnost ponarejenih zdravil.

Iz društvenega življenja

V državah EU vlagajo velike napore v zniževanje stroškov za zdravila, nimajo pa enotnega modela, po katerem zavarovalnice priznavajo povračila stroškov. Podlago za oblikovanje cen zdravil nudijo klinični dosjeji, s terapevtsko učinkovitostjo na čelu, ekonomske analize in proračunske možnosti držav. Nekatere države oblikujejo cene zdravil prosto na trgu (Nemčija, Švedska, Velika Britanija). V večini držav EU zavarovalnice priznavajo mednarodno primerljive referenčne cene zdravil, ponekod pa cene določa vlada. S cenovno politiko spodbujajo uporabo generičnih zdravil. Brazilska vlada je pred dvema letoma uvedla generično zamenjavo z namenom, da bi tudi revnejšim slojem olajšala dostopnost do zdravil. Za razliko od drugih držav, ZDA ne pozna liste esencialnih zdravil. S ciljem nižanja cen ponovno uvajajo zdravila, ki vsebujejo kombinacijo več zdravilnih učinkovin. Izsledke farmakoeconomiških študij zavarovalnice premalo upoštevajo, verjetno zaradi interesne povezanosti s političnimi strukturami. Učinkovitost povezujejo najpogosteje s cenami zdravil. Slovenci žal nimamo boljše izkušnje. Potreben bi bil dialog s politiki in poenotenje metodologije farmakoeconomiških študij na mednarodni ravni. Z vidika farmacevtske industrije je upoštevanje zgolj stroškovne učinkovitosti zdravljenja nesprejemljivo, ker znižuje konkurenčnost, dolgotrajni postopki registracije novih zdravil in nepreglednost trga pa ovirajo razvoj novih učinkovin.

Celovita farmacevtska skrb zajema pregled zdravljenja z zdravili in izboljša terapevtski izid. Novozelandska vlada je financirala projekt celovite farmacevtske skrbi po Hepler-Strandovem modelu, z namenom, da bi ugotovili, ali sodelovanje med splošnim zdravnikom in farmacevtom iz javne lekarne izboljša terapevtski izid z vidika kvalitete življenja in ustreznosti terapije. Rezultati so bili pozitivni. Izvajanje celovite farmacevtske skrbi je bilo v zunanjih javnih lekarnah slabše, boljše rezultate so dosegli v primerih, kjer so bile lekarne povezane s kliniko oz. so delovale v sklopu ambulant. V slednjem primeru so farmacevti pogosto sodelovali pri izbiri zdravila in določali odmerke.

Preobremenjenost, slaba motiviranost javnih lekarn, pomanjkanje zasebnosti v javni lekarni, kompetence farmacevtov, pa tudi nizka stopnja izobrazbe, so glavne ovire pri izvajanju celovite farmacevtske skrbi. Najboljšo strokovno podlago imajo specialisti iz klinične farmacije.

Nove tehnologije omogočajo uvajanje novih oblik storitev za bolnike. Zapis podatkov o bolnikovem zdravljenju (osebna kartica bolnika ali t.i. bolnikov profil) bi zmanjšal možnosti napak in olajšal sledljivost zdravljenja, zato postaja cilj mnogih zdravstvenih sistemov v razvitih državah. Za doseganje cilja morajo sodelovati vsi člani zdravstvenega sistema. Prikazani so bili različni modeli, ki jih uvajajo v nekaterih razvitih državah. Problemi so zelo podobni tistim, s katerimi se soočamo tudi v Sloveniji, kako zaščititi podatke, kako dostopati do podatkov, kdo lahko dostopa do podatkov, koliko in katere podatke je smiselno navajati (seznam zdravil v zadnjih dveh letih, ime osebnega zdravnika, zavarovalnice...), kdo vpisuje podatke... Zanimivo je bilo prisluhniti izkušnji iz Avstralije, kjer je vlada izdatno financirala projekt, ki pa ni zaživel, ker niso dosegli konsenza o lastništvu podatkov. Ugotovili so, da uporaba »osebne kartice bolnika« zmanjša vpliv vlade v zdravstvenem sistemu, ker izgubi velik del nadzora. Razvijajo nov model, ki bo temeljil na odločitvi posameznika glede zapisa njegovih podatkov na kartico.

V večini držav je vodenje »osebne kartice bolnika« vezano na izbranega zdravnika in izbrano lekarno. Ponekod že množično uporabljajo elektronski recept. Vpogled v osebno kartico olajša farmacevtu svetovanje, iz podatkov pa ne more ugotoviti, ali je bolnik jemal zdravila skladno z navodili, problem predstavlja tudi neažurno zapisovanje podatkov o bolniku na kartico.

Na Danskem poteka izključno elektronsko predpisovanje zdravil. Zdravila se hkrati vpisujejo na »osebno kartico bolnika«, podatki pa se zbirajo v medmrežni elektronski bazi. »Osebna kartica bolnika«, zajema seznam vseh zdravil, predpisanih v zadnjih dveh letih, natančne podatke o zdravilih, ime zdravnika, ki je zdravilo predpisal, naziv lekarne, ki je zdravilo izdala in informacijo o povračilu stroškov. S posebno kodo lahko bolnik celo preveri, kdo je gledal njegove podatke. Bolnik lahko tudi farmacevtu dovoli vpogled v podatke, ki potem lahko preveri sodelavnost bolnika in po potrebi svetuje drugo zdravilo, generično. Dolgoročno nameravajo Danci postopek centralizirati, dodati možnost vpisovanja OTC zdravil, seznam zdravil, ki jih bodo bolniki prejeli tekom bolnišničnega zdravljenja in druge uporabne funkcije, namenjen lekarnam in zdravnikom.

Vizijo vključevanja lekarn v sistem e-zdravja je opisala predstavnica PGEU. Priprava pisnih navodil za posameznega bolnika, pregledovanje interakcij zdravil, podpora pri razvoju podatkovnih zbirk o bolniku predstavljajo del novih storitev v sistemu e-predpisovanja, ki jih bo moral nuditi lekarniški farmacevt v prihodnje.

FIP šteje 114 članic iz 83 držav sveta. Znotraj tako raznolike strukture je težko organizirati kongres, ki bo vsem članom prinesel nekaj novega in jih strokovno zadovoljil. Razlike so prevelike. Uničujoča epidemija AIDS je verjetno bolj kot karkoli doslej zelo povežala vse članice med seboj, tako tiste iz najbolj ogrožene centralne Afrike in tiste iz razvite Evrope in Amerike. FIP je sprejel nekaj izjav in smernic, kako naj se farmacevti vključujemo v projekte za zaščito pred širjenjem bolezni, za katero predvidevajo, da se bo do leta 2015 umirilo. V zadnjih letih pa si FIP zelo prizadeva zavreti širjenje ponarejenih zdravil. Vpliv farmacevtske industrije je pri tem očiten, pa tudi razumljiv, saj je neka ameriška študija pokazala, da bo do leta 2010 prodaja ponaredkov dosegla 75 milijard USD. Vpliv globalizacije! Primerjava razmerja med koristjo in tveganjem, ki ga prinaša globalizacija v zdravstvu, kaže, da je tveganje več, kot je za zdravje človeštva dobro.

35. kongres ESCP

Udeleženci simpozija:
Monika Sonc, Nada Bernat, Metka Štefančič,
Nataša Kobal, Nataša Faganeli

Od 18.do 21.oktobra smo se na Dunaju udeležili 34. evropskega kongresa kliničnih farmacevtov. Glavna tema kongresa je bila Pravila komuniciranja z bolnikom-varnost bolnika in uspešni izidi zdravljenja z zdravili.

Sodelovali smo v okviru obetavne farmakoterapevtske teme posebne interesne skupine - Cancer care: Farmakoterapija po meri bolnika. Sodobne metode molekularne biologije in laboratorijske tehnike omogočajo pregled nekaterih(genskih) lastnosti bolnika, nam pa ponujajo odgovore, zakaj se nekdo močno odzove na zdravljenje, nekdo pa sploh ne (npr.zaradi razlik v metabolizmu zdravila). V zvezi s tem se poraja več vprašanj: kdo bo odgovoren za gensko testiranje, kakšna bo vloga farmacevta v farmakoterapiji na osnovi farmakogenomike, ali bo farmacevt nadzoroval etično(ne)spornost in varoval interese bolnika TER KAKO IZVAJATI FARMACEVTSKO SKRB?

Odziv bolnika na zdravlilo je kompleksna funkcija genskih faktorjev, faktorjev iz okolja in faktorjev obnašanja bolnika. Potrebne bodo velike multicentrične študije, ki bodo pokazale, katere genske variabilnosti so klinično relevantne, torej kdaj bi bilo smiselno izvajati gensko testiranje že pred samim začetkom farmakoterapije.

Farmakogenomika proučuje povezavo genske variabilnosti (genomika) in učinkovitosti oziroma toksičnosti zdravil (farmakogenetika).

Farmakogenomika izboljša klinične izide farmakoterapije - omogoča izbor najučinkovitejšega zdravila za posameznega bolnika, zmanjšanje stranskih učinkov zdravil in vpliva na stroškovno najučinkovitejše zdravljenje. Vključitev farmakogenomike v rutinsko klinično prakso je še vedno zelo omejena. Gensko testiranje se že uporablja v individualnih primerih pri hudih nepričakovanih stranskih učinkih zdravil, ne uporablja pa se (še) za screening, v preventivne namene ali kot pomoč pri odločitvi za najučinkovitejše zdravlilo.

V onkološki praksi bi bilo smiselno testiranje genskega polimorfizma za naslednje gene:

DPYD (toksičnost 5-fluorouracila), TS (odziv na zdravljenje s 5-fluorouracilom), UGT1A1 (toksičnost irinitkana), XRCC1 (preživetje) in TMPT (toksičnost tiopurino).

Program strokovnih prireditev SFD v letu 2007

Simpozij ob 32. skupščini SFD, Portorož, 17. - 19. maj 2007

Četrtek, 17. maj: *Internet in zdravila*

Petek, 18. maj: *Biološka zdravila*

Sobota, 19. maj: *Odgovornost farmacevta pri izdaji nereguliranih izdelkov*



19. simpozij Sekcije farmacevtskih tehnologov - Vlada

Ljubljana, 7. junij 2007



Simpozij Sekcije farmacevtskih tehnikov ob občnem zboru – tema še ni določena

Rogla na Pohorju, 25. - 26. junij 2007



Simpozij Sekcije farmacevtov javnih lekarn – Zdravljenje bolezni ščitnice

Ljubljana, Hotel Mons, 11. oktober 2007



Učne delavnice (6 ponovitev) - Bolezni sodobnega časa – od razpoznave do zdravljenja

Maribor, 26. - 27. januar, 16. - 17. marec, 16. - 17. november 2007

Portorož, 20 - 21. april, 1. - 2. junij, 5 - 6. oktober 2007



Mednarodni simpozij Sekcije za farmacevtsko kemijo - 5th Joint Meeting on Medicinal Chemistry

Kraj in datum: Portorož, 17- 21. junij 2007

Farmacevtski vestnik

Vsebina letnika 57 – Letno kazalo

Originalni znanstveni članki in pregledni članki

Družbeno breme v bolnišnici pridobljene pljučnice, Burden of Hospital-Acquired Pneumonia (Nataša Nagelj Kovačič, Jože Drinovec, Aleš Mrhar)	3
Grško-rimski viri o zdravilstvu pri ljudstvih srednje in vzhodne Evrope, Greco-roman sources on the healing art of middle and eastern european peoples (Aleš Obreza)	9
Intrauterine devices – past, present and future perspectives, Maternični vložki – preteklost, sedanjost in obeti v prihodnosti (Edina Vranič, Taib Delić)	14
Katalitični antioksidanti kot nove zdravilne učinkovine, Catalytic antioxidants as new drugs (Andrej Perdih, Slavko Pečar)	24
Kanabinoidi – njihovo delovanje in učinki, Cannabinoids – their action and effects (Mateja Štampelj, Ilonka Ferjan)	30
Osnove in možnosti fotodinamičnega zdravljenja, Basic Principles and Potentials of Photodynamic Therapy (Boštjan Japelj, Slavko Pečar)	131
Inhibitorji citokromov, Cytochrome Inhibitors (Marija Sollner Dolenc)	140
Zdravila v nosečnosti II: Klinični vidiki, Drugs in pregnancy II: Clinical aspects (Matej Avanzo, Alenka Šavc, Mojca Kerec Kos)	146
Modulatorji apoptoze kot nova zdravila, Modulators of Apoptosis in drug development (Iztok Vidic, Dušan Šuput, Irina Milisav)	150
Koloidni silicijev dioksid kot nosilec učinkovin, Colloidal silicon dioxide as a drug carrier (Odon Planinšek)	155

Ciljan vnos učinkovin z uporabo lektinov – korak naprej v razvoju bioadhezivnih dostavnih sistemov, Lectin-mediated drug delivery – a step forward in development of bioadhesive drug delivery systems (Petra Kocbek, Julijana Kristl)	162
Community pharmacy in Europe: Overview of key aspects of regulation, vne lekarne v Evropi: ključni regulatorni vidiki (onica Alfaro)	51
Mreža lekarn v Sloveniji – pregled stanja in možnosti razvoja, Pharmacy nets in Slovenia –overview of the present situation and future perspectives (Andreja Čufar)	55
Regulativa, organizacija in vodenje v lekarnah, Regulation, organization and management of pharmacies (Milan Pukšič)	66
Epidemiologija kožnih bolezni, Epidemiology of skin diseases (Aleksej Kansky)	78
Etiologija in zdravljenje aken, Etiology and treatment of acne (Boris Kralj)	81
Farmacevtski izdelki za zdravljenje aken in nega kože, Pharmaceutical products for the treatment of acne vulgaris and the skin care (Saša Baumgartner, Nurdin Bajramović)	84
Zdravljenje glivičnih okužb kože, Treatment of dermatomycoses (Mateja Dolenc Voljč)	93
Atopijski dermatitis-sodobno zdravljenje, Atopic dermatitis- current topical treatment strategies (Vlasta Dragoš)	96
Transdermalna dostava zdravilnih učinkovin, Transdermal drug delivery (Mirjana Gašperlin)	100
Luskavica: etiologija in zdravljenje luskavice, Psoriasis: etiology and treatment (Jovan Miljković)	106
Nove učinkovine za zdravljenje luskavice, New drugs for the treatment of psoriasis (Jernej Kristl)	110

Farmacevtski vestnik, Vsebina letnika 57 – Letno kazalo

Pregled dermatoterapevtikov, Overview of dermatotherapeutics (Aleš Obreza)	116	Farmakoterapija depresivnih motenj, Drug treatment options in depression (Cvetka Bačar, Silvo Koder)	245
Interakcije dermatoterapevtikov z drugimi zdravili, Drug-drug interactions with dermatotherapeutics (Simon Žakelj)	122	Interakcije med zdravili za zdravljenje depresivne motnje in drugimi zdravili, Interactions between drugs for treatment of depressive disorders and other drugs (Robert Roškar)	251
Kožni rak, Skin cancer (Mirjam Rogl Butina, Igor Bartenjev)	126	Depresije in posebne populacijske skupine, Depression and distinct population groups (Jure Koprivšek)	258
Emulgiranje v mikroporoznih membranskih sistemih, Emulsification in icroporous membrane systems (Alenka Zvonar, Pegi Ahlin Grabnar, Julijana Kristl)	183	Farmakoepidemiološki vidiki zdravljenja z antidepresivi med leti 1999 in 2005, Pharmacoepidemiologic perspective on treatment with antidepressants between 1999 and 2005 (Mitja Kos)	262
Pregled mikroemulzijskih sistemov za peroralno uporabo, Microemulsion system for oral drug delivery - an overview (Branka Rozman)	189	Pharmaco-economic perspective on depressive disorder treatment with antidepressants, Farmakoekonomski vidiki zdravljenja depresivnih motenj z antidepresivi (Mitja Kos, Frederico Calado)	268
Prevladujoče učinkovine za zdravljenja luskavice, Dominant drugs for treatment of psoriasis (Jernej Kristl)	196	Kvalitativna analiza rastlinskih vrst v zdravilnih čajnih mešanicah na osnovi restrikcijske analize ITS regij, Qualitative analysis of individual herbal drugs in tea mixtures using restriction analysis of ITS regions (Petra Slanc, Sanja Brus, Borut Štrukelj)	274
Uvodnik k tematski prilogi o motnjah razpoloženja (Marga Kocmur)	203	Uporaba hitosana v farmaciji , The use of chitosan in pharmacy (Mojca Kerec Kos)	287
Naveličanost, preutrujenost, izgorelost (Marga Kocmur)	204	Proteini sladkega okusa kot alternativna sladila, Sweet-tasting proteins as alternative sweeteners (Aleš Berlec, Borut Štrukelj)	292
Napovedni dejavniki za motnje razpoloženja (Jana Govc Eržen)	208	Primerjava pogojev v prebavnem traktu med človekom in nekaterimi laboratorijskimi živalmi s stališča ciljne dostave v kolon, Comparison of gastrointestinal conditions of human and laboratory animals from the colon delivery viewpoint (Polona Smrdel, Marija Bogataj, Aleš Mrhar)	298
Bolnik z motnjami razpoloženja v lekarni (Mihaela Tršinar)	212	Normativne lekarniške knjige na slovenskem skozi stoletja, Standard pharmaceutical books in Slovenia during centuries (Pavle Jovič)	305
Vpliv spomina in koncentracije na razpoloženje (Zvezdan Pirtošek)	217	Sprememba specifičnosti imunoglobulinov razreda G pod vplivom elektro-oksidacije, Changes in specificity of class G immunoglobulins after electro-oxidation (Jasna Omersel, Borut Božič)	311
Zdravila z ginkom biloba – uporaba v Evropi in pri nas (Samo Kreft)	219		
Komu svetovati Bilobil (Petra Vitezič)	223		
Kvasovke – tovarne rekombinantnih proteinov, Yeasts – factories for recombinant proteins (Mateja Novak Štagoj)	235		
Etiologija, patofiziologija, diagnostika in epidemiologija depresivnih motenj, Epidemiology, etiology, clinical aspects and diagnosis of depression disorder (Blanka Kores Plesničar)	241		

Farmacevtski vestnik, Vsebina letnika 57 – Abecedno kazalo

Družbeno breme sladkorne bolezni tipa 2,
Burden of type 2 diabetes
(Julija Jelič, Jože Drinovec, Aleš Mrhar) 316

Zanimivosti iz stroke

34, 35, 169, 170, 171, 172, 279, 325

Iz društvenega življenja

37, 45, 173, 175, 180, 281, 329

Osebnosti

48, 328

Farmacevtski vestnik Vsebina letnika 57 - Avtorsko kazalo

Ahlin Grabnar P	183
Alfaro M	51
Avanzo M	146
Bačar C	245
Bajramović N	84
Bartenjev I	126
Baumgartner S	84, 173, 281
Berlec A	292
Bogataj M	298
Božič B	311
Bratož A	180
Brus S	274
Calado F	268
Čufar A	55
Delić T	14
Dolenc Voljč M M	93
Dolinar J	37, 175, 329
Doljak B	35, 169, 279, 325
Dragoš V	96
Drinovec J	3, 316
Ferjan I	30
Gašperlin M	100, 34
Govc Eržen J	208
Japelj B	131
Jelič J	316
Jeras M	45

Jovič P	305
Kansky A	78
Kerec Kos M	146, 287
Kocbek P	162
Kocmur M	203, 204
Koder S	245
Koprivšek J	258
Kores Plesničar B	241
Kos M	262, 268
Kralj B	81
Kreft S	219
Kristl A	171
Kristl J	162, 170, 183
Kristl Jernej	110, 196
Milislav I	150
Miljković J	106
Mrhar A	3, 233, 298, 316
Nagelj Kovačič N	3
Novak Štagoj M	235
Obreza A	9, 116
Omersel J	311
Pečar S	24, 131
Perdih A	24
Pirtošek Z	217
Planinšek O	155
Pukšič M	66
Rogl Butina M	126
Roškar R	251
Rozman B	189
Šavc A	146
Slanc P.	35, 169, 274, 279, 325
Smolej M.	35, 169, 279, 325
Smrdel P	298
Sollner Dolenc M	140
Štempelj M	30
Štrukelj B	1, 35, 49, 129, 169, 172, 181, 233, 274, 279, 285, 292, 325
Šuput D	150
Tivadar A	35, 169, 279, 325
Tršinar M	212
Vidic I	150
Vitezič P	223
Vranič E	14
Žakelj S	122
Zvonar A	183

Ime vse pove

Azitromicin Lek

azitromicin

Učinkovit, varen in preizkušen
s široko paleto odmerkov in pakiranj.

NOVO



POVZETEK GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA

SESTAVA: 1 filmsko obložena tableta vsebuje 250 mg ali 500 mg azitromicina v obliki azitromicinijevega monohidrata. **INDIKACIJE:** okužbe zgornjega dela dihal (bakterijski faringitis/tonzilitis, sinusitis, akutno vnetje srednjega ušesa), okužbe spodnjega dela dihal (akutni bakterijski bronhitis, akutna eksacerbacija kroničnega bronhitisa in blaga do zmerno huda intersticijska ali alveolarna zunajbolnišnična pljučnica), okužbe kože in podkožnega tkiva (erythema chronicum migrans, erizipel, impetigo, sekundarna piodermija), bolezni, ki se prenašajo s spolnimi odnosi (negonokokni uretritis/cervicitis). **ODMERJANJE IN NAČIN UPORABE:** Zdravilo vzamemo kot enkratni dnevni odmerek, lahko med jedjo. Odrasli in otroci, ki tehtajo več kot 45 kg: • okužbe zgornjih in spodnjih dihal ter okužbe kože in podkožja (razen erythema chronicum migrans): 3 dni zapored po 500 mg ali 5 dni zapored in sicer prvi dan po 500 mg, nato od drugega do petega dne po 250 mg; • erythema chronicum migrans: prvi dan 1000 mg, nato od drugega do petega dne po 500 mg; • bolezni, ki se prenašajo s spolnimi odnosi: enkratni odmerek 1000 mg. Odmerjanje za starejše bolnike je enako kot za mlajše. **KONTRAINDIKACIJE:** Znane alergijske reakcije za azitromicin, druge makrolidne antibiotike ali katerokoli drugo sestavino zdravila. **POSEBNA OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI:** Zelo redko se pojavijo hude alergijske reakcije, ki jih je treba zaradi dolgega razpolovnega časa azitromicina simptomatsko zdraviti dalj časa. Priporočeno je spremljanje morebitnega pojava znakov superinfekcije. Med zdravljenjem se lahko pojavi psevdomembranozni kolitis; to je treba upoštevati pri bolnikih, pri katerih se je po začetku zdravljenja z azitromicinom pojavila driska. Izkušen glede varnosti in učinkovitosti pri dolgotrajnem zdravljenju z azitromicinom ni, zato v primeru hitre ponovitve okužbe izberemo drug antibiotik. Azitromicin je treba dajati previdno bolnikom z nevrološkimi ali psihiatričnimi motnjami. Bolnikom z blago ledvično okvaro (očistek kreatinina > 0,66 ml/s) odmerka azitromicina ni treba prilagajati, pri bolnikih s hujšo ledvično okvaro pa je zaradi skopih podatkov potrebna previdnost. Azitromicin se izloča v glavnem skozi jetra, zato se ga pri ljudeh z jetno boleznijo uporablja zelo previdno. Previdnost je priporočena tudi pri bolnikih s porfirijo in podaljšanim intervalom Q-T. Azitromicin Lek tablete se mora predpisovati za indicirane infekcije, ki so povzročene z bakterijami občutljivimi na azitromicin. V nasprotnem primeru je povečana nevarnost razvoja rezistentnih bakterij. Količina natrija v maksimalnem

dnevnom odmerku ne presega 200 mg, kar je pomembno za ljudi z dieto z omejenim vnosom natrija. **INTERAKCIJE:** Zaradi upočasnjene absorpcije azitromicina je potrebno Azitromicin Lek tablete zaužiti najmanj dve uri pred zaužitjem antacida ali dve uri po njem. Potrebna je previdnost med sočasno uporabo Azitromicin Lek tablet ter derivatov ergotamina, digoksina, ciklosporina, kumarinskih peroralnih antikoagulantov. Zaradi interakcij drugih makrolidnih antibiotikov in astemizola, triazolama, heksobarbitala, fenitoina, midazolama, alfentanila, terfenadina, teofilina in rifabutina je potrebna previdnost tudi pri sočasni uporabi teh zdravil. Nosečnost in dojenje: Uporaba Azitromicin Lek tablet med nosečnostjo in dojenjem ni priporočena, razen kadar je ta nujno potrebna. **NEŽELENI UČINKI:** Najpogostejše se pojavijo prebavne motnje: slabost, driska, mehko blato, nelagodje v trebuhu (bolečine/krči), bruhanje. Lahko se pojavijo tudi: kandidiaza, vaginitis, omotica/vrtoglavica, konvulzije, glavobol, nespečnost in hiperaktivnost, flatulenca, dispepsija, neješčnost, izpuščaji, srbečica, artralgija. Redko se pojavijo: trombocitopenija, anafilaksija, tudi anafilaktični šok, agresivnost, agitacija, anksioznost, nervoza, parestezije, sprememba okusa, poslabšanje sluha, palpitacije, aritmija, zaprtje, psevdomembranozni kolitis, sprememba barve jezika, holestatična zlatenica, hepatitis, angioedem, koprivnica, preobčutljivost za svetlobo, erythema multiforme, Stevens-Johnsonov sindrom, toksična epidermalna nekroliza, intersticijski nefritis, akutna ledvična odpoved. **NAČIN IZDAJE ZDRAVILA:** Samo na zdravniški recept. **VRSTA OVOJNINE IN VSEBINA:** Škatla s 6 filmsko obloženimi tabletami po 250 mg azitromicina in škatla z 2 ali 3 filmsko obloženimi tabletami po 500 mg azitromicina. **IMETNIK DOVOLJENJA ZA PROMET:** Lek farmacevtska družba d.d., Verovškova 57, Ljubljana, Slovenija. **INFORMACIJA PRIPRAVLJENA:** avgust 2006.



član skupine Sandoz



let razvoja

Lek farmacevtska družba d.d. Verovškova 57, 1526 Ljubljana, Slovenija • www.lek.si



Veletrgovina za oskrbo lekarn.

Želimo postati tudi vaš dobavitelj.

Pokličite nas!

telefon: (01) 423 48 25, (01) 423 48 88

telefaks: (01) 423 48 25

Tbilisijska 87 ● Ljubljana